

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1929

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

(Mention MÉDECINE)

PAR

THÉODORE STÉPHANIDÈS

Né à Bombay (Indes Anglaises), le 21 Janvier 1896

CONTRIBUTION

A LA

TECHNIQUE DU MICROSCOPE

Président : M. STROHL, Professeur

PARIS

AMÉDÉE LEGRAND, ÉDITEUR

93, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 93

1929

11.01

THESE
POUR
LE DOCTORAT EN MÉDECINE

ANNÉE 1929

THÈSE

N°.....

POUR LE

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

(Mention MÉDECINE)

PAR

THÉODORE STÉPHANIDÈS

Né à Bombay (Indes Anglaises), le 21 Janvier 1896

CONTRIBUTION

A LA

TECHNIQUE DU MICROSCOPE

Président : M. STROHL, *Professeur*

PARIS

AMÉDÉE LEGRAND, ÉDITEUR

93, BOULEVARD SAINT-GERMAIN, 93

1929

I. — PROFESSEURS

MM.

Anatomie.	ROUVIERE.
Anatomie médico-chirurgicale et chirurgie expérimentale	CUNÉO.
Physiologie.	ROGER.
Physique médicale.	STROHL.
Chimie médicale.	DESGREZ.
Bactériologie.	LEMIERRE.
Parasitologie et histoire naturelle médicale.	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générales.	Marcel LABBÉ.
Pathologie médicale.	SICARD.
Pathologie chirurgicale.	LECÈNE.
Anatomie pathologique.	ROUSSY.
Histologie.	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale.	TIFFENEAU.
Hydrologie, thérapeutique et climatologie	M. VILLARET.
Thérapeutique.	LÉPER.
Hygiène	TANON.
Médecine légale.	BALTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie.	MÉNÉTRIÉR.
Pathologie expérimentale et comparée.	RATHERY.
	CARNOT.
Clinique médicale.	BEZANÇON.
	ACHARD.
	WIDAL.
Hygiène et clinique de la première enfance.	LAREBOULLET.
Clinique des maladies des enfants.	NCBÉCOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale.	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques.	GOUGEROT.
Clinique des maladies du système nerveux.	GUILLAIN.
Clinique des maladies infectieuses.	TEISSIER.
Clinique de la tuberculose	Léon BERNARD.
	DELBET.
Clinique chirurgicale.	HARTMANN.
	LEJARS.
	GOSSET.
Clinique ophtalmologique.	TERRIEN.
Clinique urologique.	LEGUEU.
	COUVELAIRE.
Clinique d'accouchements.	BRINDEAU.
	JEANNIN.
Clinique gynécologique.	J.-L. FAURE.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie.	OMBRÉDANNE.
Clinique thérapeutique médicale.	VAQUEZ.
Clinique oto-rhino-laryngologique.	SEBILEAU.
Clinique thérapeutique chirurgicale.	Pierre DUVAL.
Clinique propédeutique	SERGENT.
Professeur sans chaire.	RRANCA.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

II. — AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM.	MM.
ABRAMI Pathologie médicale.	JOYEUX Parasitologie.
ALAJOUANINE Neurologie et psychiatrie.	LABBÉ (Henri) Chimie biologique.
AUBERTIN Pathologie médicale.	LARDENNOIS Pathologie chirurgicale.
BASSET Pathologie chirurgicale.	LEMAITRE Oto-rhino-laryngie.
BAUDOUIN Pathologie médicale.	LEROUX Anatomie pathologique.
BINET Physiologie.	LÉVY-SOLAL Obstétrique.
BLANCHETIÈRE Chimie biologique.	LHERMITTE Pathologie mentale.
BROCQ Pathologie chirurgicale.	LIAN Pathologie médicale.
BRULÉ Pathologie médicale.	MATHIEU Pathologie chirurgicale.
CADENAT Pathologie chirurgicale.	METZGER Obstétrique.
CHABROL Pathologie médicale.	MONDOR Pathologie chirurgicale.
CHIRAY Pathologie médicale.	MOURE Pathologie chirurgicale.
CLERC Pathologie médicale.	MULON Histologie.
DEBRÉ Hygiène.	OBERLING Anatomie pathologique.
DOGNON Physique.	OLIVIER Anatomie.
DONZELOT Pathologie médicale.	PHILIBERT Bactériologie.
DUVOIR Médecine légale.	QUÉNU Pathologie chirurgicale.
ÉCALLE Obstétrique.	RICHET Fils Physiologie.
FIESSINGER Pathologie médicale.	SÉZARY Dermatologie et syphiligraphie.
GARNIER Pathologie expérimentale.	VALLERY-RADOT (Pasteur) Pathologie médicale.
GATELLIER Pathologie chirurgicale.	VAUDESCAL Obstétrique.
GIROUD Histologie.	VELTER Ophtalmologie.
HARVIER Pathologie médicale.	VERNE Histologie.
HEITZ-BOYER Urologie.	
HOVELACQUE Anatomie.	
HUTINEL Pathologie médicale.	

III. — AGRÉGÉS RAPPELÉS A L'EXERCICE

pour le service des examens

MM.	MM.
BUSQUET Pharmacologie.	NEVEU-LEMAIRE Parasitologie.
GUÉNIOT Obstétrique.	RETTERRER Histologie.
LEQUEUX Obstétrique.	ZIMMERN Physique.

IV. — AGRÉGÉS CHARGES DE COURS DE CLINIQUE

à titre permanent

MM.		MM.	
ALGLAVE	Clinique chirurgicale.	LÈRL	Clinique médicale.
AUVRAY	Clinique chirurgicale.	MOCQUOT	Clinique chirurgicale.
CHEVASSU	Clinique chirurgicale.	PROUST	Clinique chirurgicale.
LAIGNEL-LAVASTINE . .	Clinique médicale.	SCHWARTZ	Clinique chirurgicale.
LE LORIER	Clinique obstétricale.		

V. — CHARGÉS DE COURS

MM. MAUCLAIRE, agrégé.	}	Chargé du cours de chirurgie orthopédique chez l'adulte pour les accidents du travail, les mutilés de guerre et les infirmes adultes.
FREY		Stomatologie.
CHAILLEY-BERT		Éducation physique.
LEDOUX-LEBARD		Radiologie clinique.
WEILL-HALLÉ		Puériculture.

Par délibération en date du 2 Décembre 1798, l'Ecole a arrêté que ses opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MON PÈRE

A MA MÈRE

MEIS ET AMICIS

A M. LE PROFESSEUR STROHL
PROFESSEUR DE PHYSIQUE MÉDICALE

Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse.

A MES MAÎTRES DANS LES HOPITAUX

- M. LE PROFESSEUR GOSSET.
- M. LE PROFESSEUR WIDAL (*in memoriam*).
- M. LE DOCTEUR CAUSSADE.
- M. LE DOCTEUR PARMENTIER.
- M. LE PROFESSEUR OMBREDANNE.
- M. LE PROFESSEUR TESSIER.
- M. LE PROFESSEUR GUILLAIN.
- M. LE PROFESSEUR JEANSELME.
- M. LE PROFESSEUR BRINDEAU.
- M. LE PROFESSEUR CLAUDE.
- M. LE DOCTEUR DARBOIS.
- M. LE DOCTEUR BELOT.

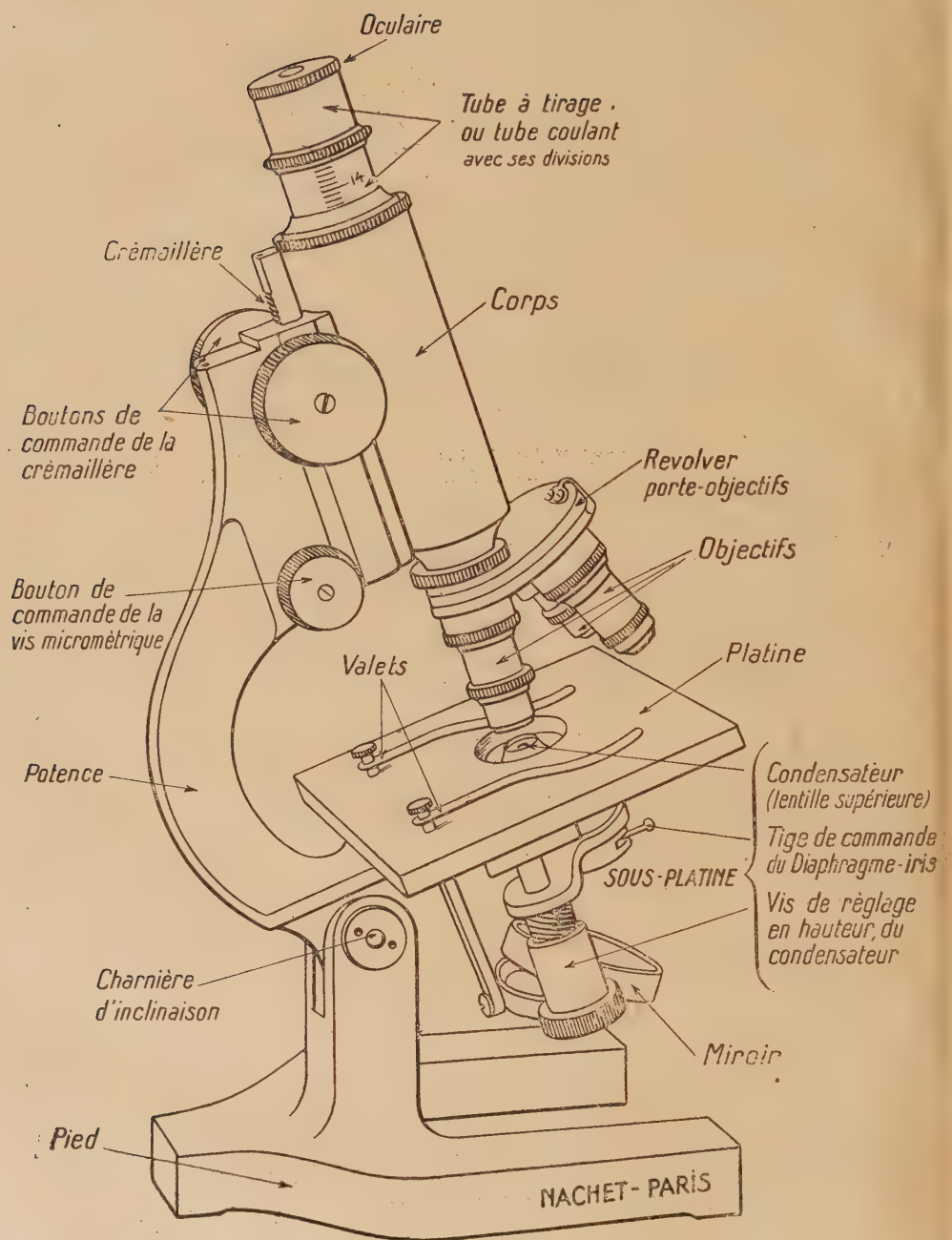


FIGURE 1

Avant-Propos

La microscopie médicale a vu son horizon s'étendre de plus en plus depuis l'époque mémorable où Pasteur a jeté les bases de la bactériologie, et de nos jours il n'y a aucune branche de la médecine qui pourrait se passer de cette science.

Le microscope permet à l'œil humain d'explorer le monde des infiniment petits, mais le maniement de cet instrument n'est pas aussi simple que certains semblent le croire. Pour en tirer le maximum de rendement il faut suivre une technique rigoureuse. Ce point est d'une importance capitale, car, en le négligeant, on s'expose non seulement à laisser échapper une quantité de détails que l'on aurait dû voir, mais — chose plus grave — à se laisser tromper par de fausses images.

La grande majorité des ouvrages qui traitent de la micrographie décrivent toutes les phases de la préparation des structures pour l'observation microscopique sans s'occuper de la manière d'étudier ces structures quand elles se trouvent sur la platine du microscope.

Pour cette raison, nous avons cru faire besogne utile en rédigeant ce travail où nous avons exposé méthodiquement la technique de *l'observation* microscopique.

En présentant cette petite monographie nous n'avons pas de prétentions d'originalité mais, en rassemblant les méthodes exposées dans un grand nombre de livres différents,

en les unifiant et en y incorporant certains détails dictés par notre propre expérience, nous avons nourri l'espoir de contribuer — tant soit peu — à l'avancement de la technique du microscope.

PREMIÈRE PARTIE

Description du Microscope

Le microscope comprend deux parties essentielles : le *statif* et l'*optique*.

CHAPITRE I

Le Statif

Le statif sert de support à l'optique. Il doit être soigneusement et solidement construit pour ne pas être sujet à des flexions, à du jeu dans ses pièces composantes et à des vibrations qui seraient funestes à tout travail sérieux. Il est composé des parties suivantes : 1) le pied ; 2) la potence ; 3) le tube ; 4) le mécanisme de mise au point ; 5) la platine ; 6) la sous-platine ; 7) le miroir.

1) LE PIED.

Il existe deux modèles courants de pied. L'un, connu sous le nom de *pied anglais*, a la forme d'un trépied. L'au-

tre (que les Anglais appellent « pied continental ») a la forme d'un fer-à-cheval plus ou moins modifié.

Le pied anglais est plus léger, moins sujet aux vibrations et plus stable, surtout quand le microscope est employé en position horizontale pour le dessin ou la microphotographie.

Le pied en fer-à-cheval a par contre de notables avantages. Il est plus compact ; le microscope tient moins de place et peut être enfermé dans un coffret plus petit. Il peut être rapproché du bord de la table sans courir le danger qui guette l'autre forme chez laquelle un faux mouvement, faisant trop dépasser l'une des branches du trépied, peut causer la chute de l'instrument.

Le pied en fer-à-cheval est donc, somme toute, le plus pratique. Il comporte deux parties : La *base* et la *colonne*. Dans les meilleurs modèles la base est forgée d'une seule pièce avec la colonne, ce qui confère plus de solidité et de rigidité à l'ensemble. Il doit être assez bien proportionné pour que le microscope soit en équilibre stable dans les positions inclinées qui sont les plus commodes pour le travail. Pour obtenir ce résultat il est nécessaire entre autres que l'éperon qui prolonge le fer-à-cheval à l'arrière soit d'assez grandes dimensions, que la verticale passant par le centre de gravité de l'instrument entier tombe bien au milieu de la base et que cette dernière ne repose sur la table que par *trois* points de contact. Le microscope doit pouvoir prendre une inclinaison de 30° au moins sans la moindre tendance à basculer, mais il n'est pas essentiel d'exiger qu'il en soit de même quand l'instrument est incliné à l'horizontal. Dans les cas plutôt rares (sauf lorsqu'on utilise certains appareils microphotographiques) où cette position pourrait être employée, il est facile de fixer le pied à une planche ou de le lester au moyen d'un poids quelconque placé sur les extrémités antérieures du fer-à-cheval.

2) LA POTENCE.

La potence est le bras plus ou moins recourbé qui porte le tube du microscope. Elle est creuse et contient le mécanisme de mise au point de l'optique. Comme pour le pied, la potence doit être solidement construite pour ne pas être sujette à des vibrations. Sa forme doit permettre qu'on l'utilise comme poignée pour soulever le microscope sans fatiguer ou fausser les parties mécaniques. Cette condition est remplie dans les microscopes qui possèdent des mécanismes de mise au point modernes. Par contre, il faut bien se garder de transporter par la potence les modèles plus anciens où une vis micrométrique verticale agit directement sur un prisme triangulaire. On risquerait de détériorer le mécanisme de mise au point lent et, en déposant le microscope, de se faire pincer le doigt dans la rainure à la partie inférieure de la potence. En présence d'un tel instrument, il vaut mieux le soulever par la colonne.

La potence est reliée à la colonne par la charnière d'inclinaison excepté dans le cas de petits microscopes non inclinables, utilisés surtout pour la dissection. Cette charnière sera munie d'un levier de serrage pour régler son degré de dureté ou au besoin, pour la bloquer complètement. Si la charnière ne comporte pas de levier, le constructeur devra livrer une clef de serrure avec le statif.

3) LE TUBE.

Le tube se compose de deux parties : a) d'un tube extérieur ou *corps* ; b) d'un tube intérieur ou *tube à tirage*.

Le Corps. — Le corps est muni à son extrémité supérieure d'une bague dans laquelle glisse le tube à tirage, et à son extrémité inférieure d'une partie filetée dans laquelle se vissent les objectifs.

La tendance actuelle est de donner au corps un très grand diamètre (5 cm. et plus) afin d'éviter autant que possible

les réflexions sur les parois internes, surtout quand on se sert du microscope pour la microphotographie. Ceci n'est cependant pas indispensable car un diaphragme convenable placé en bon endroit dans le tube à tirage (voir page 66) empêche toute réflexion nuisible.

Le Tube à Tirage. — Le tube à tirage est une des parties les plus importantes du microscope. Il sert, non pas pour faire varier les grossissements comme il est communément supposé, mais pour corriger l'aberration de sphéricité introduite dans les objectifs par l'emploi de lamelles d'épaisseurs variées. Il doit pénétrer à frottement très doux dans le tube extérieur et pour obtenir ce résultat il faut que la bague qui relie ces deux pièces soit garnie intérieurement d'étoffe. On doit toujours exiger ce modèle ; les tubes à tirage à bague entièrement métallique se ternissent à la longue et il est impossible d'obtenir un mouvement délicat. En voulant enfoncer le tube on risque même, si le pignon du mouvement rapide est un peu lâche, d'entraîner le corps du microscope et de détériorer la lentille frontale de l'objectif en la heurtant contre la préparation. Pour les mêmes raisons il est préférable que le tube à tirage soit en métal nickelé et non en cuivre nu, car ce dernier se ternit très rapidement. Le tube à tirage ne devra pas non plus glisser trop facilement, autrement il pourrait s'enfoncer sous son propre poids ou sous le poids de tout accessoire dont on voudrait le charger.

Le tube à tirage doit porter une échelle graduée en millimètres pour indiquer la longueur mécanique de tube, c'est-à-dire la distance entre l'extrémité supérieure du tube à tirage et l'extrémité inférieure du corps où se visse l'objectif.

La partie supérieure du tube à tirage reçoit l'oculaire. Son diamètre interne est de 23,3 mm., calibre adopté par presque tous les fabricants. Plusieurs maisons ont un calibre quelque peu différent. Il serait désirable qu'elles se rallient

au calibre international, afin que les oculaires de tous les opticiens soient interchangeables au même titre que les objectifs.

Les tubes à tirage de bonne construction présentent une légère augmentation de diamètre à 2,5 cm. environ de leur extrémité supérieure. Si cette disposition fait défaut les oculaires de faible puissance, étant de beaucoup les plus longs, polissent les parois internes du tube où des réflexions nuisibles peuvent se produire quand on utilise les oculaires forts.

L'extrémité inférieure du tube à tirage porte un diaphragme qui devra laisser un diamètre libre d'au moins 1,75 cm. pour ne pas couper une partie des rayons lumineux venus de l'objectif et réduire ainsi son ouverture numérique. Ce diaphragme sera muni d'un filetage dans lequel on pourra visser un objectif. Il arrive assez souvent que la crémaillère du mouvement rapide n'a pas une course suffisante pour mettre au point les objectifs de 40 à 50 mm. de distance focale. La difficulté est vaincue en vissant les objectifs en question dans l'extrémité inférieure du tube à tirage. Etant très peu sensibles aux variations de la longueur mécanique du tube, l'image qu'ils fournissent ne subit aucune détérioration appréciable.

Longueur. — La longueur du tube à tirage doit être combinée avec celle du tube extérieur pour donner une longueur totale de 140 mm. environ quand le tube à tirage est fermé et de 200 mm. au moins quand il a été tiré à bout. Ces chiffres comprennent la longueur du revolver qui est d'environ 10 mm. Les dimensions énumérées ci-dessus sont les plus commodes car avec des préparations à lamelles épaisses on est souvent obligé de fermer le tube à tirage à 140 ou à 150 mm. pour obtenir les meilleures images. Si au contraire les lamelles sont exceptionnellement minces il peut être nécessaire de l'allonger à 180 ou à 190 mm. Il est souvent utile aussi de pouvoir ne pas employer de lamelle du tout, ce qui exige un très long tube.

L'intérieur des deux tubes est soigneusement enduit avec une peinture noire mate pour réduire au minimum les réflexions sur leurs parois. Pour parer mieux encore à cet inconvénient, on devra placer dans l'extrémité supérieure du tube à tirage un diaphragme en carton noirci dont la position sera déterminée par la longueur de l'oculaire le plus faible que l'on a coutume d'employer. (Voir page 66).

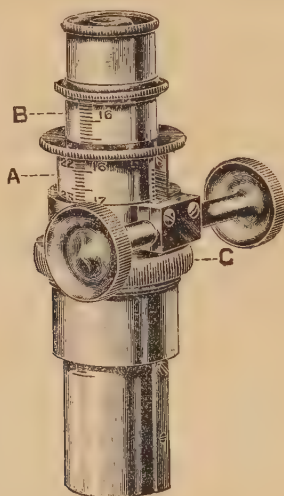


FIG. 2

Tube et tirage mécanique. — Dans les statifs les plus complets il est d'usage, surtout en Angleterre, d'avoir deux tubes à tirage glissants l'un dans l'autre. Le tube externe est muni d'un mécanisme à pignon et à crémaillère grâce auquel on peut lui communiquer un mouvement très doux. Ce dispositif est d'une grande utilité pour trouver la longueur optima de tube pour chaque lamelle couvre-objet, manipulation d'une importance capitale avec les objectifs puissants surtout pour le travail avec les condensateurs à fond noir. La figure 2 représente un tube à tirage mécanique fabriqué par Watson qui peut être adapté sur la plupart des statifs.

4) LE MÉCANISME DE MISE AU POINT.

Le microscope est muni de deux mouvements de mise au point, l'un rapide et l'autre lent.

Mouvement de mise au point rapide. — Le mouvement de mise au point rapide se fait par un système crémaillère et pignon à dents obliques commandé par deux gros boutons moletés situés à droite et à gauche du statif. Il faut que ces deux pièces soient taillées avec précision pour bien s'adapter l'une dans l'autre et s'engager sans trépidation et sans temps perdu. Un bon mouvement rapide est assez délicat pour mettre au point à lui seul un objectif de 4 mm. de distance focale. Il doit posséder un dispositif quelconque pour régler le degré de pression entre le pignon et la crémaillère et obtenir à volonté un mouvement plus dur ou plus coulant. Ce résultat est généralement obtenu au moyen de deux vis situées à l'extrémité supérieure de la glissière du mouvement rapide. Le réglage s'effectue en serrant ou en desserrant les deux vis en question.

Il est désirable que la crémaillère soit assez longue pour mettre au point les objectifs faibles à grande distance focale. Un objectif de 40 mm. de distance focale doit pouvoir être employé en position sur le revolver.

Mouvement de mise au point lent. — Il existe un très grand nombre de modèles de mécanisme de mise au point lent. Le mouvement est obtenu par vis micrométrique à action directe par vis micrométrique et transmission au moyen d'engrenages, d'excentriques, de leviers horizontaux ou verticaux, etc. Tous ces systèmes — sauf le premier — sont excellents pourvu qu'ils soient bien construits. A notre avis, pourtant, le meilleur et le plus robuste est celui à vis micrométrique et levier vertical ou horizontal. Le mécanisme à levier vertical est le plus commode car il est commandé par deux boutons latéraux mais celui à levier

horizontal est plus simple et plus résistant. Ce dernier, en effet, ne présente qu'un mouvement de haut en bas ou de bas en haut tandis que le précédent est compliqué d'un mouvement latéral surajouté.

Dans certains microscopes le mouvement lent est commandé par un seul bouton horizontal à l'arrière du statif. Dans beaucoup de modèles modernes il en existe deux placés verticalement, un de chaque côté de la potence. Cette position est la plus commode car, grâce au parallélisme de leurs axes, la main peut passer plus rapidement et plus facilement d'un bouton à l'autre des deux mécanismes de mise au point.

Il est bon qu'il existe un accord entre le sens de rotation des boutons du mouvement rapide et du mouvement lent. En tournant les boutons de ces deux mécanismes dans *le même sens* ils devront déplacer du même côté le tube du microscope. On s'expose autrement à des confusions et à des mécomptes pendant le travail. Certains mouvements lents sont actionnés par une vis sans fin. Quand ils sont arrivés à l'extrémité inférieure par exemple de leur course, une rotation du bouton dans le même sens qu'auparavant fait *remonter* l'objectif. Pour éviter cet état des choses qui obligerait à ce que l'on tourne les boutons du mouvement rapide et du mouvement lent en *sens opposé* pour obtenir un déplacement du tube dans la même direction, il faut avoir soin à ce que le trait gravé sur la glissière du mouvement lent soit toujours à peu près à mi-chemin entre les deux traits gravés sur la potence.

Un des boutons du mouvement lent est généralement muni d'un tambour divisé pour mesurer le déplacement vertical du tube du microscope. Chez la plupart des constructeurs chaque division indique le $1/500$ de mm. Ce dispositif permet de mesurer *l'épaisseur* de l'objet que l'on examine (Voir page 139).

5) LA PLATINE.

La platine sert de support à la préparation qui doit être examinée au microscope. Il en existe deux modèles en usage courant : La *platine carrée fixe* et la *platine ronde tournante*. Quelle que soit sa forme, la platine doit être assez grande ; avoir une largeur ou un diamètre de 9 à 10 cm. au moins et être recouverte d'ébonite ou de toute autre substance analogue. L'ouverture centrale de la platine aura un diamètre suffisant, 2,5 cm. et même plus, autrement si l'on se sert d'un condensateur à immersion ou de certains modèles de condensateurs à fond noir, l'huile de cèdre est entraînée sur la surface supérieure de la platine par les déplacements de la préparation. La distance entre le centre de cette ouverture et la potence du microscope doit être d'au moins 75 mm. pour permettre l'examen des coupes d'organes larges, l'usage des boîtes de Petri, des cuves, etc. La platine est munie de deux pinces-valets pour maintenir la préparation.

Avantages des deux formes de platine. — La platine carrée fixe a l'avantage d'être la plus simple et la moins coûteuse. Elle permet aussi plus facilement l'adjonction d'une platine à chariot amovible.

La platine ronde tournante est commode pour le dessin et la microphotographie car elle permet d'orienter à volonté l'objet sous examen. Elle est aussi d'une très grande utilité pour la métallographie et pour tout travail à la lumière polarisée. Dans ce dernier cas sa périphérie est généralement divisée en 360 degrés.

Pour les travaux médicaux la platine tournante n'a pas d'avantages bien marqués sur la platine carrée fixe et elle possède l'inconvénient de ne pas toujours permettre l'adjonction d'une platine à chariot amovible. La platine carrée suffit largement d'ailleurs pour tous les besoins courants.

La platine carrée fixe. — La platine carrée fixe doit se conformer aux conditions énoncées à propos des platines

en général. Il est nécessaire qu'elle soit assez épaisse pour ne pas céder sous le poids de la main qui manipule la préparation car autrement l'image observée ne reste pas au point sous les forts grossissements. Enfin la platine carrée fixe doit pouvoir être munie à volonté d'une platine à chariot amovible.

La platine ronde tournante. — La platine ronde tournante doit présenter toutes les qualités déjà énumérées. Les meilleurs modèles sont munis de deux vis de centrage et d'une vis calante. Les premières servent à faire coïncider l'axe de rotation de la platine avec l'axe optique de l'objectif employé, l'autre à bloquer la rotation.

Malheureusement, la plupart des maisons d'optique ne construisent pas de platines à chariot amovible pouvant être montées sur les platines rondes ; c'est un point à retenir dans le choix d'un microscope. Cependant, une platine à chariot qui peut être adaptée sur beaucoup de statifs à platine ronde est fabriquée par Krauss.

Quand la platine est munie de vis de centrage, elle peut servir jusqu'à un certain point de platine à chariot, mais ses déplacements sont de faible amplitude et insuffisants pour explorer toute la surface d'une préparation.

La platine à chariot. — La platine à chariot est très utile, pour ne pas dire indispensable, à tout travail sérieux, car elle permet d'examiner méthodiquement et minutieusement une préparation. Il en existe deux catégories : 1) Les platines à chariot amovible ; 2) Les platines à chariot faisant corps avec le microscope.

1) *La platine à chariot amovible.* — La platine à chariot amovible est destinée à être adaptée sur les platines fixes. On en rencontre beaucoup de modèles et un grand nombre de moyens d'attache différents. Certains se fixent à la potence, d'autres à un des bords de la platine, certains enfin utilisent les trous des pinces-valets. L'avant-dernier modèle est à préférer, car il s'adapte mieux à tous les gen-

res de statif et peut être plus facilement mis en place ou enlevé suivant les besoins.

La platine à chariot, quelle que soit sa forme, doit être solide et exempte de vibrations. Ses mouvements seront très doux, sans pourtant être trop libres. Le mouvement d'avant-arrière surtout ne doit pas montrer de tendance à se déplacer par son propre poids quand le microscope est incliné. Le mouvement latéral aura une portée de 40 à 50 mm. au moins et celui d'avant-arrière une de 25 mm. La distance entre les deux butées qui maintiennent la préparation doit être réglable pour permettre l'utilisation de lames, de compresseurs, etc., de dimensions variables. L'extrémité d'une de ces butées devra basculer pour la mise en place de la préparation. La manipulation est plus commode si c'est celle du côté gauche qui est mobile. Elle doit être munie d'un bouton ou d'un levier bien accessible aux doigts de la main gauche, et son mouvement de bascule doit être suffisant pour que la main droite puisse facilement mettre en place la préparation même avec les objectifs de courte distance focale. Il faut que les deux butées maintiennent étroitement et solidement la préparation, autrement celle-ci ne suivra pas docilement les mouvements de la platine à chariot. Ceci est surtout à craindre lorsque l'on se sert d'un objectif à immersion homogène, car l'huile de cèdre, à cause de sa viscosité, a une fâcheuse tendance à s'opposer à la progression de la lame.

La platine à chariot faisant corps avec le statif. — Les grands statifs sont généralement pourvus d'une platine à chariot faisant corps avec l'instrument. Cette disposition a de grands avantages, car la platine à chariot ainsi bâtie présente beaucoup plus de stabilité et de précision dans ses mouvements que les platines surajoutées.

Ces platines sont de deux modèles : 1) Dans le premier, la surface supérieure entière de la platine se déplace tout d'une pièce pour les mouvements d'avant-arrière. Pour les mouvements latéraux, un mécanisme entraîne la prépara-

tion seulement, qui glisse sur la surface de la platine comme dans les platines à chariot amovibles ; 2) Dans le second modèle, la surface supérieure entière de la platine se déplace tout d'une pièce pour *les deux mouvements rectangulaires*. Il a de très grands avantages sur sa rivale et mérite d'être plus généralement fabriqué qu'il ne l'est. Avec lui, on peut employer les compresseurs, les boîtes de Petri, les cuves de toute forme, les lames de longueurs diverses, etc., avec une facilité et une rapidité qui n'est pas possible avec le premier modèle.

Les boutons de commande des platines à chariot sont situés latéralement dans certains modèles, au-dessus de la platine dans d'autres. Le premier système est à préférer, car la main peut passer des boutons latéraux de mise au point aux boutons latéraux de la platine avec plus de facilité. Il est très commode aussi si le mouvement latéral puisse être commandé à volonté de la main droite ou de la main gauche par deux boutons, un placé de chaque côté de la platine. De cette façon, les deux mains peuvent travailler simultanément, l'une maniant le bouton du mouvement d'avant-arrière et l'autre celui du mouvement latéral. Avec cet arrangement, il est beaucoup plus facile de suivre les déplacements rapides d'un organisme vivant dans un milieu liquide. La course de la platine sera d'au moins 50 mm. pour le mouvement latéral et de 25 mm. pour celui d'avant-arrière.

Echelles au millimètre et Verniers. — Il est utile, mais non indispensable, que la platine à chariot soit munie de deux échelles au mm. avec des verniers au dixième pour repérer les parties intéressantes d'une préparation. Malheureusement, ce procédé n'est pas très sûr, car s'il existe le moindre jeu dans le mécanisme de la platine, l'objet repéré et recherché une seconde fois avec les mêmes graduations de l'échelle ne revient pas toujours dans le champ, surtout si l'on emploie un grossissement un peu fort. D'autre part, cette méthode n'est plus valable si l'on veut

rechercher un objet repéré avec un autre microscope. Il existe d'autres moyens de repérage qui seront décrits à la page 152.

6) LA SOUS-PLATINE.

La sous-platine comprend l'ensemble des pièces destinées à porter, à centrer et à mettre au point le condensateur ou tout autre appareil d'éclairage. Dans sa forme la plus élémentaire, elle se compose d'un simple tube cylindrique attaché à la surface inférieure de la platine. Le condensateur entre par le bas du cylindre et y glisse à frottement doux. On l'enfonce plus ou moins dans le cylindre en question pour le mettre au point, c'est-à-dire pour obtenir qu'une image de la source éclairante soit concentrée dans le plan de la préparation.

Ce dispositif n'est pas suffisant pour les travaux délicats. Il est alors nécessaire de pouvoir mettre au point le condensateur avec plus de précision et de le centrer exactement avec l'axe optique de l'objectif employé. Il est à déplorer que la plupart des constructeurs (sauf en Angleterre) ne munissent pas leurs statifs, sauf parfois les plus grands, de vis de centrage pour le condensateur. Au lieu de cela, ils ajoutent à leurs microscopes des dispositifs beaucoup plus coûteux et plus compliqués pour déplacer excentriquement le diaphragme iris afin d'obtenir un éclairage oblique. Ce système est très désavantageux pour les études et les recherches médicales. L'iris doit toujours être — et rester — rigoureusement centré au condensateur, car il constitue le moyen le plus simple et le plus expéditif pour centrer le condensateur lui-même avec l'objectif. En outre, l'abus de l'éclairage oblique peut donner lieu à toutes sortes de fausses images. Elle peut, par exemple, transformer une chaîne de streptocoques en bacille filamenteux montrer des apparences de capsules autour de bactéries qui n'en ont pas, augmenter l'importance de certains

détails aux dépens d'autres plus intéressants, etc. (Voir page 105). Le mécanisme pour décentrer l'iris constitue une dépense *absolument inutile* et pourrait être avantageusement remplacé à beaucoup moins de frais par des vis pour centrer le condensateur. Le décentrage du condensateur ne rend de services réels qu'à ceux qui ont pour spécialité l'étude des diatomées ou à ceux qui contrôlent les qualités optiques des objectifs. Pour les études médicales, il ne répond à aucun besoin et peut même devenir nuisible au bon travail. Dans les cas, vraiment exceptionnels, où l'éclairage oblique pourrait être nécessaire, on l'obtient facilement en plaçant des diaphragmes appropriés dans le porte-diaphragme du condensateur.

Dispositifs pour la mise au point du condensateur. — Il existe deux dispositifs pour mettre au point le condensateur, c'est-à-dire pour le déplacer suivant l'axe optique du microscope. Le premier et le moins coûteux comporte une grosse vis latérale grâce à laquelle le condensateur peut être élevé ou abaissé (Voir fig. 1). Quand le condensateur est arrivé au plus bas de sa course, il est automatiquement rejeté de côté pour permettre l'éclairage direct par le miroir avec les objectifs faibles. Ce mécanisme est très efficace lorsqu'il est bien construit, mais il ne permet pas un mouvement aussi délicat que le second dispositif chez lequel la mise au point du condensateur se fait au moyen d'un pignon et d'une crémaillère à dents obliques.

Les deux formes s'attachent le plus souvent à la surface inférieure de la platine, mais dans les microscopes les plus modernes elles sont fixées à l'extrémité inférieure de la potence qui se prolonge sous la platine. Ce nouveau système est le plus recommandable. Avec l'ancien il arrive souvent que la faible traction exercée sur la platine en mettant au point le condensateur soit suffisante pour déranger la mise au point de l'objectif lorsqu'on examine une préparation sous un fort grossissement.

En plus du pignon et de la crémaillère, certains statifs

très complets possèdent aussi un mécanisme de mise au point lent pour le condensateur. Il est d'une grande utilité dans les travaux délicats avec les objectifs puissants et les condensateurs perfectionnés à fond clair ou à fond noir chez lesquels un déplacement minime peut produire une différence importante dans les résultats.

Dispositifs pour le centrage du condensateur. — Quel que soit le mécanisme de la mise au point, le condensateur est porté par un tube cylindrique dans lequel il se glisse, soit de bas en haut, soit de haut en bas. Le second modèle est le plus commode car avec lui on évite la possibilité d'un déplacement du condensateur dans le cylindre sous l'effet de son propre poids. Il est à mentionner, en passant, que le diaphragme iris ne doit point, comme sur la plupart des microscopes, faire partie du statif. Chaque condensateur doit être pourvu de son propre diaphragme formant corps intégral avec lui et soigneusement centré avec son axe optique. L'iris ainsi situé sert au centrage du condensateur avec l'objectif employé, manœuvre qui ne peut être effectuée avec les iris indépendants et décentrables.

Le tube cylindrique est porté dans une monture munie de deux vis qui agissent contre un ressort antagoniste. Grâce à elles le condensateur peut être exactement centré avec l'axe optique de l'objectif avec lequel on travaille, condition *indispensable* pour obtenir les meilleurs résultats car les axes optiques de deux objectifs ne coïncident pas, même quand ils sont du même constructeur.

Calibre du tube porte-condensateur. — Le Royal Microscopical Society de Londres a proposé pour le tube porte-condensateur un diamètre interne de 38,786 mm. Ce calibre a été adopté par tous les constructeurs anglais, par Reichert et par le Spencer Lens Co. Quant aux autres maisons d'optique, chacune a un calibre différent. Il est à souhaiter que le même calibre soit adopté par tous les constructeurs

(comme il a été fait pour les objectifs) afin que l'on puisse utiliser sur un même microscope des condensateurs de n'importe quelle provenance!

7) LE MIROIR.

Le miroir doit avoir un diamètre de 50 mm. au moins et son centre doit coïncider exactement avec l'axe optique du microscope. Si ces deux conditions ne sont pas réalisées, l'éclairage peut être fort compromis lorsque l'on se sert du microscope en position très inclinée. (Voir page 73). Au lieu d'être attaché à l'extrémité de la crémaillère de la sous-platine comme on le voit très souvent, il est préférable que le miroir soit porté sur une tige indépendante le long de laquelle il puisse glisser. Ce montage permet de trouver la position où le maximum de lumière est concentré sur la préparation lorsque, pour les grossissements faibles, on se sert de la face concave du miroir, sans l'intervention du condensateur. Il faut aussi que le miroir soit inclinable à l'angle désiré et que l'on puisse le rejeter hors de l'axe optique ou l'enlever complètement du statif. Il est parfois commode, en effet, de laisser venir directement les rayons de la source lumineuse au condensateur quand le microscope est utilisé en position horizontale ou très inclinée.

Le miroir possède deux faces : une plane et une concave. La face plane est la plus importante car c'est elle qui est *toujours* utilisée lorsque l'on se sert du condensateur. Elle doit être *rigoureusement plane* pour ne pas montrer des réflexions multiples de la source éclairante ce qui produit, lors des travaux délicats, une détérioration importante de la définition (1). La face concave ne sert que très rarement et seulement pour le travail sans condensateur avec les objectifs faibles. Son rayon de courbure doit être tel qu'une

(1) Certaines maisons (Baker, Watson) fournissent des miroirs plans en *acier inoxydable* qui éliminent complètement les réflexions multiples. Leur usage est à recommander.

image de la source illuminante puisse être formée dans le plan de la préparation qui reçoit alors le maximum de lumière. Un rayon de courbure de 6 à 8 cm. est le plus commode. Nous avons remarqué que la plupart des microscopes que nous avons examinés possédaient des miroirs concaves à foyers si longs qu'ils ne pouvaient être éloignés suffisamment de la platine pour obtenir le meilleur effet. Pour les tests qui doivent être appliqués pour s'assurer des qualités ou des défauts du miroir, voir page 71.

La sous-platine Abbé. — Comme son nom l'indique, cette forme de sous-platine a été d'abord établie par le professeur Abbé et construite par Zeiss. Nous la décrivons ici, non à cause de ses prétendus avantages, mais parce qu'elle a été copiée par presque tous les opticiens de l'Europe continentale et de l'Amérique pour leurs grands et moyens statifs.

Le condensateur se glisse de bas en haut dans un tube cylindrique où il est retenu par une vis de pression. Il n'existe pas de vis pour le centrage. Sous ce cylindre se trouve le diaphragme iris dans une monture spéciale munie d'un pignon et d'une crémaillère permettant de le décentrer pour l'éclairage oblique. La rotation complète de l'iris peut être également obtenue, et il existe un support pour l'utilisation de verres teintés ou de diaphragmes de formes diverses.

Le miroir a une face plane et une face concave. Dans certains modèles il est placé à l'extrémité de la crémaillère de la sous-platine, dans d'autres, il est porté par une tige indépendante.

Cette forme de sous-platine peut rendre de grands services à ceux dont le travail nécessite l'usage fréquent de la lumière oblique sous diverses incidences. Pour les travaux médicaux, où l'éclairage oblique n'est presque jamais utilisé et où le centrage exact du condensateur est d'une grande importance, nous sommes de l'avis qu'une sous-

platine pareille à celle que nous avons décrite précédemment est de beaucoup la plus préférable.

Une remarque. — Avant de quitter le chapitre du statif pour aborder celui de l'optique, nous voulons protester contre le procédé de certaines maisons qui refusent de livrer leurs statifs sans système optique. Le micrographe devrait être libre de choisir la combinaison qu'il préfère et les restrictions des fabricants semblent indiquer de leur part un manque de confiance dans leurs propres objectifs qu'ils cherchent à écouler même contre le gré du client.

CHAPITRE II

L'Optique

L'optique du microscope comprend : 1) l'objectif ; 2) l'oculaire ; 3) le condensateur.

1) L'OBJECTIF.

L'objectif se compose de la *monture* et des *lentilles*.

La monture. — La monture est un cylindre métallique portant à son extrémité supérieure le pas de vis anglais (diam. 20,358 mm.) qui a été universellement adopté, permettant ainsi l'emploi des objectifs de tous les fabricants sur le même statif. Les lentilles sont vissées à l'extrémité inférieure de la monture. Depuis quelque temps les lentilles des objectifs fabriqués par Zeiss ne sont plus vissées les unes sur les autres mais serties dans de petits cylindres métalliques qui s'emboîtent eux mêmes dans le cylindre creux constitué par la monture. Avec ce système on évite les erreurs de centrage qui peuvent se produire avec l'ancienne méthode par suite des vissages et dévissages nombreux exigés par le réglage. L'exemple de Zeiss a été suivi par Baker et il devrait l'être par tous les opticiens.

La monture est généralement en cuivre laqué, souvent l'extrémité inférieure est en nickel pour les objectifs à sec puissants et les objectifs à immersion. Certaines maisons (Zeiss, Baker) utilisent pour leurs montures un alliage blanc inoxydable. Cette innovation est des plus heureuses et il serait à souhaiter que toutes les parties du microscope

non émaillées en noir soient construites de ce métal qui présente beaucoup d'avantages sur le cuivre laqué généralement employé.

Les lentilles. — Les lentilles qui composent un objectif peuvent varier en nombre de deux à trois dans les achromates de qualité ordinaire jusqu'à huit et plus dans les apochromates. Elles sont simples ou réunies en systèmes de deux ou trois éléments collés ensemble par du baume de Canada ou toute autre substance ayant le même indice de réfraction que le verre. Suivant la formule de l'objectif il existe un grand nombre de combinaisons différentes de lentilles, mais en général les objectifs faibles jusqu'à 8 mm. de distance focale se composent de deux systèmes doubles ou triples et les autres d'une lentille frontale hémisphérique simple et de deux ou trois systèmes doubles ou triples.

Les lentilles sont fabriquées de verres ayant des indices de réfraction différents, flint (I. R. 1,54-1,71), crown (I. R. 1,51-1,56), etc. Les objectifs semi-apochromatiques et apochromatiques contiennent aussi un certain nombre de lentilles en spath-fluor, minéral possédant un faible indice de réfraction (1,4338) joint à une faible dispersion.

Classement des objectifs. — Suivant le degré de leur correction chromatique les objectifs sont classés en *achromatiques*, *semi-apochromatiques* et *apochromatiques*. Suivant le milieu qui est en contact avec leur lentille frontale, ils sont divisés en *objectifs à sec*, *à immersion à eau* et *à immersion homogène*. Ces derniers sont ainsi nommés parce que l'huile de cèdre employée à les immerger a le même indice de réfraction que le verre (1,54).

Notation des objectifs. — Les objectifs achromatiques et semi-apochromatiques à sec sont généralement désignés par des nombres ou des lettres arbitraires qui ne correspondent pas d'un fabricant à l'autre. Les objectifs portant les plus petits nombres ou les premières lettres de l'alphabet sont les plus faibles.

Les objectifs achromatiques et semi-apochromatiques à immersion sont désignés par leur distance focale exprimée soit en mm., soit en pouces anglais (1 pouce = 25,4 mm.) Les objectifs les plus puissants sont ceux dont la distance focale est la plus petite.

Les objectifs apochromatiques sont tous désignés par leur distance focale exprimée en mm. Cependant l'usage se répand de plus en plus à désigner aussi de la même manière les objectifs achromatiques afin d'éviter la confusion due aux notations arbitraires.

Connaissant la distance focale d'un objectif, nous pouvons calculer son *grossissement propre* en divisant le chiffre 250 (distance en mm. de la vision distincte) par la valeur en mm. de sa distance focale. Ex. : Un objectif ayant une distance focale de 50 mm. aura un grossissement propre de $250 : 50 = 5$ diamètres linéaires.

Il est souvent écrit dans les traités que l'on trouve le *grossissement total* du microscope en multipliant le grossissement propre de l'objectif par le grossissement propre de l'oculaire employé. On voit même des catalogues de maisons d'optique employer encore ce calcul pour les tables de grossissements de leur objectifs. Dans ces tables on trouve par exemple les nombres suivants pour un objectif de 2 mm. de distance focale.

Grossissement propre $250 : 2 = 125$.

Grossissement total avec l'oculaire $\times 10 = 125 \times 10 = 1250$.

Lorsque l'on vérifie cependant ce résultat à l'aide d'un micromètre objectif et d'une chambre claire on ne trouve qu'un grossissement de 900 !

D'où provient cette différence considérable ? De ce que le grossissement propre d'un objectif indique l'agrandissement de l'image réelle projetée par lui à 250 mm. de distance. D'autre part l'image recueillie et grossie par l'oculaire est l'image réelle formée par l'objectif dans le plan focal inférieur de l'oculaire en question, plan situé près de l'extrémité supérieure du tube du microscope. Cet-

te distance étant beaucoup plus petite que 250 mm. (elle varie autour de 160 mm. pour les objectifs modernes) il s'ensuit que l'image recueillie par l'oculaire est également moins aggrandie.

Depuis quelque temps Zeiss a introduit un nouveau terme en microscopie, celui du « *grossissement partiel* » de l'objectif. Le grossissement partiel indique justement l'agrandissement de l'image formée par l'objectif au plan focal inférieur de l'oculaire et il est trouvé en divisant la longueur de tube optique (distance entre le plan focal supérieur de l'objectif et le plan focal inférieur de l'oculaire) par la distance focale de l'objectif. Ce grossissement partiel multiplié par le grossissement propre de l'oculaire donne le grossissement total *véritable* du microscope. Zeiss a abandonné toute autre forme de notation et le grossissement partiel, gravé sur chaque objectif, lui sert en même temps de numéro d'ordre. Cette notation est d'un grand intérêt pratique car elle permet de trouver immédiatement le grossissement total réel, donnée d'une importance capitale pour le micrographe. Plusieurs autres maisons d'optique, Leitz et Reichert entre autres, inscrivent aussi dans leurs catalogues le grossissement partiel de chaque objectif et basent sur lui leurs tables des grossissements. Il serait souhaitable que tous les autres opticiens en fassent autant pour mettre plus d'uniformité dans les tables des grossissements qui à présent peuvent parfois induire le lecteur en erreur.

Comme la longueur du tube optique varie avec les différents objectifs, étant en général plus courte pour les objectifs faibles que pour les forts, il n'est pas facile de calculer empiriquement le grossissement partiel. On ne s'écartera pourtant pas trop de la vérité dans la plupart des cas si l'on emploie la méthode suivante :

Pour les objectifs faibles jusqu'à la distance focale de 25 mm. y comprise, diviser le nombre 100 par la distance focale en mm.

Pour les objectifs moyens jusqu'à la distance focale de 6 mm. y comprise, diviser le nombre 150 par la distance focale.

Pour les objectifs forts, diviser le nombre 200 par la distance focale.

Ex. Un objectif de 30 mm. de D. F. aura un grossissement partiel approximatif de $150 : 30 = 5$ diamètres.

Un objectif de 3 mm. de D. F. aura un grossissement partiel approximatif de $200 : 3 = 66$ diamètres.

Enfin tout système de notation restera forcément incomplet si on ne lui adjoint pas l'*ouverture numérique* (1) de l'objectif, seul facteur qui puisse nous renseigner entièrement sur la finesse des détails qu'il peut mettre en évidence. En effet, un objectif ayant un grossissement partiel de 90 et une ouverture numérique de 1,25 a une puissance de résolution très inférieure à un de 1,40 O. N., même si ce dernier n'a qu'un grossissement partiel de 60 (2).

(1) *Ouverture numérique*. Notation, due au Prof. Abbé, qui définit le pouvoir séparateur d'un objectif.

Le besoin de cette notation s'est fait sentir dès l'invention des objectifs à immersion car l'angle d'ouverture, (l'angle formé entre x par les rayons lumineux les plus obliques qui, divergeant d'un point donné d'un objet, peuvent entrer dans l'objectif) qui servait de critérium pour les objectifs à sec, ne permet pas de comparaison entre ces derniers et les objectifs à immersion. L'angle d'ouverture en effet varie suivant le milieu qui est en contact avec la lentille frontale de l'objectif considéré. L'ouverture numérique au contraire ne présente pas ce désavantage, et deux objectifs possédant la même ouverture numérique possèdent aussi un pouvoir séparateur identique, même si l'un des deux soit à sec et l'autre à immersion.

L'ouverture numérique d'un objectif dépend de son angle d'ouverture et du milieu en contact avec sa lentille frontale. L'ouverture numérique a d'un objectif est donnée par la formule :

$$a = n \sin u$$

Dans cette équation n représente l'indice de réfraction du milieu en contact avec la lentille frontale de l'objectif, u représente la moitié de l'angle d'ouverture de l'objectif pour le milieu en contact avec sa lentille frontale.

On obtient ainsi une notation applicable à tous les objectifs car, pour un même cône lumineux, le second terme de l'équation ci-dessus donne un chiffre constant quel que soit le milieu traversé. La raison en est que lorsque l'indice de réfraction augmente, l'angle d'ouverture diminue d'une quantité proportionnelle et inversement.

(2) Le nombre de lignes par mm. résoluble en lumière oblique par un objectif donné est trouvé en multipliant le double de l'O. N. par la fréquence de la lumière employée.

Le nombre de lignes par mm. qu'un objectif peut résoudre lorsqu'il est éclairé par un cône de lumière axiale qui remplit les $3/4$ de sa lentille postérieure est trouvé (M. E. Nelson "Journal of the Royal Microscopical Society", 1893 page 15), en multipliant la fréquence de la lumière employée par $3/2$ et en multipliant ensuite le résultat par l'O. N.

Pour ces raisons chaque constructeur devrait graver sur la monture de tous ses objectifs : 1) Leur distance focale en mm. ; 2) Leur O. N. ; 3) Leur grossissement *partiel* ; 4) La longueur de tube mécanique et l'épaisseur de lamelle pour lesquelles ils sont corrigés ; 5) Un symbole permettant de reconnaître si l'objectif est achromatique, semi-apochromatique ou apochromatique ; par exemple les lettres A., S. A., A P.

Quant à un numéro d'ordre, on pourrait s'en passer, car le plus simple, à notre avis, est de désigner un objectif par sa distance focale exprimée en mm.

Objectifs achromatiques. — Les achromates sont les objectifs courants chez lesquels l'aberration chromatique n'a été corrigée que pour deux couleurs du spectre. Ils montrent donc avec certains objets délicats des traces d'halos colorés qui peuvent nuire à la perception des détails les plus fins. Ce défaut devient surtout évident quand on emploie l'éclairage oblique ou à fond noir. Pour la microphotographie aussi, les objectifs achromatiques sont inférieurs aux apochromates décrits plus loin. Il est plus difficile avec eux d'obtenir une mise au point rigoureuse, et pour réussir des clichés d'une netteté suffisante on est généralement obligé d'avoir recours aux écrans sélecteurs afin d'avoir une lumière plus ou moins monochromatique.

A part ces désavantages, les objectifs achromatiques donnent avec la grande majorité des objets des images excellentes et ils suffisent largement à presque tous les travaux.

Les objectifs achromatiques les plus habituellement fournis par les maisons d'optique sont représentés dans le tableau ci-dessous. Pour chacun nous indiquons la distance focale, le grossissement partiel et l'ouverture numérique. Les nombres donnés ne sont qu'approximatifs car ils varient entre certaines limites avec les divers fabricants.

	Dist. Focale		Gross. Partiel	O. N.
	mm.	Pouces angl.	Pour une long. de tube de 160 mm.	
Objectifs à sec	75	3	1,5	—
	50	2	2	0,08
	40	1 2/3	2,5	0,10*
	35	1 1/3	3	0,12
	30	1 1/4	4	0,15
	25	1	5	0,20
	16	2/3	10	0,25
	12	1/2	15	0,32
	8	1/3	20	0,40
	6	1/4	25	0,65
	4	1/6	45	0,75
	3	1/8	60	0,80
mm. à eau	2	1/12	90	1,15
Imm. homog.	3	1/8	60	1,25
	2	1/12	90	1,30
	1,6	1/15	115	1,30
	1,3	1/16	125	1,30

Certains fabricants, surtout en Angleterre, fournissent aussi des objectifs ayant une très longue distance focale et un très faible grossissement partiel, D. F. 100 mm., gross. part. moins de 1. Ces objectifs sont parfois utiles lorsqu'on veut étudier l'aspect général d'un spécimen ou d'une coupe, mais leur usage est plus indiqué en botanique et en zoologie qu'en médecine.

On peut de même trouver chez certaines maisons d'optique des objectifs à sec très puissants, D. F. 2 mm., gros. part. 100., O. N. 0,85, mais leur usage n'est pas à recommander pour des raisons qui seront exposées plus loin. (Voir page 43).

Objectifs apochromatiques. — Les apochromates sont des objectifs pour lesquels l'aberration chromatique a été cor-

rigée pour trois couleurs du spectre. Ils donnent par conséquent des images dépourvues d'irisations et plus nettes que celles des achromatiques, ce qui fait qu'ils peuvent être employés avec des oculaires plus puissants. Ce résultat est obtenu grâce surtout aux propriétés optiques du spath-fluor, un minéral possédant à la fois une dispersion et un indice de réfraction extrêmement faibles (1,4338).

Les apochromates ont en outre une plus grande luminosité que les objectifs achromatiques, mais ils présentent le désavantage d'une courbure très prononcée du champ. Ce défaut est un peu diminué par l'emploi d'oculaires spéciaux, oculaires périplanétiques de Leitz, oculaires « holoscopique » de Watson, etc. Pour la microphotographie, où la courbure du champ est spécialement gênante, Zeiss a introduit les « homals », oculaires destinés exclusivement à ce travail et ne pouvant servir à l'observation visuelle.

Les objectifs apochromatiques, étant surtout corrigés pour les rayons de l'extrémité violette du spectre (sous-correction), ne peuvent être employés avec les oculaires ordinaires de Huygens. A moins de se servir des oculaires de projections (dans la microphotographie), il faut toujours employer les *oculaires compensateurs* qui, par leur sur-correction, annulent la sous-correction de l'objectif. Les objectifs apochromatiques les plus courants sont représentés dans le tableau suivant :

	Dist. focale en mm.	Gross. partiel	O. N.
Objectifs à sec	16	10	0,30
	8	20	0,60
	4	45	0,90
	3	66	0,95
Imm. à eau	2,5	70	1,25
Imm. homog.	3	60	1,30
	3	60	1,40
	2	90	1,30
	2	90	1,40
	1,5	125	1,30

Dernièrement, aussi, Zeiss a mis sur le marché un apochromate de 30 mm. D. F. avec un grossissement partiel de 5 et une O. N. de 0,15.

Les objectifs de 1,40 et de 1,30 O. N. comparés. — L'objectif de 1,40 O. N. présente un gain de 8 % en pouvoir séparateur et de 14 % en luminosité sur celui de 1,30.

Par contre il a les désavantages d'une lentille frontale qui peut se desservir au moindre choc et d'une distance frontale de moitié moins grande que celle du second objectif.

Quant à l'objectif de 3 mm. de distance focale et de 1,40 O. N. nous n'en sommes pas partisan. A moins d'être doué d'une vue exceptionnelle, son grossissement partiel ($\times 60$) n'est pas assez élevé pour bien mettre en évidence les plus petits détails qu'il peut séparer grâce à sa grande ouverture numérique. Ceci nécessite l'utilisation d'oculaires très puissants et le résultat final nous semble inférieur à ce que l'on obtient avec l'objectif de 2 mm. de distance focale (grossissement partiel = $\times 90$) et un oculaire moins fort.

En résumé, l'objectif de 2 mm. de distance focale et de 1,40 O. N. est à préférer quand le travail exige le *maximum* de pouvoir séparateur. Dans les autres cas il vaut mieux choisir celui de 1,30 O. N. à cause de sa distance frontale supérieure et sa lentille frontale moins fragile.

Objectifs semi-apochromatiques. — A cause de leur construction délicate et de la rareté du spath-fluor, les apochromates reviennent à un prix très élevé. Pour cette raison les diverses maisons d'optique ont produit des objectifs plus simples où les lentilles en spath-fluor sont en plus petit nombre. Ces objectifs qui tiennent le milieu entre les apochromates et les achromates par leurs qualités optiques sont désignées sous le nom de *semi apochromatiques*, d'*objectifs à spath-fluor* ou d'*objectifs à fluorine*. Ils peuvent

être employés avec les oculaires de Huyghens ou préféralement avec les oculaires compensateurs.

La formule semi-apochromatique est généralement réservée pour les objectifs à sec puissants et les objectifs à immersion. Les plus courants sont les suivants :

		Dist. Focale		Gros. partiel.	O. N.
		mm.	Ponces angl.		
objectifs à sec	}	4	1/6	45	0,80
		3	1/8	60	0,85
		2,3	1/10	70	0,85
		2	1/12	90	0,90
Imm. homog.	}	3,5	1/7	50	0,95
		2	1/12	90	1,30
		1,6	1/15	115	1,30
		1,5	1/16	125	1,30

Épaisseur du couvre-objet et longueur de tube mécanique. — Pour obtenir les meilleurs résultats avec un objectif il faut, en l'employant que l'épaisseur de la lamelle couvre-objet et la longueur mécanique de tube soient exactement les mêmes que celles pour lesquelles il a été corrigé lors de sa fabrication.

Épaisseur du couvre-objet. — La grande majorité des maisons d'optique corrigent leurs objectifs pour une épaisseur de lamelle de 0,17 à 0,18 mm. Il est très important de se tenir à cette épaisseur sous peine de déranger les corrections de l'aberration sphérique de l'objectif. Heureusement, comme il est décrit plus loin (page 41) on peut remédier aux variations d'épaisseur de la lamelle en se servant du tube à tirage ou en utilisant les objectifs munis d'un collier à correction. (Pour la description du collier à correction, voir page 41).

Longueur de tube mécanique. — Tout objectif est corrigé pour une longueur de tube invariable. Cette longueur se mesure depuis l'extrémité inférieure du corps du mi-

croscopie où est vissé l'objectif jusqu'à l'extrémité supérieure du tube à tirage où vient buter le rebord de l'oculaire. Elle n'est pas la même pour tous les fabricants. La plupart ont adopté une longueur de 160 mm., mais certains, Leitz, Seibert, Watson, corrigent leurs objectifs pour une longueur de 170 mm.

A notre avis, tous les opticiens feraient bien de se rallier à une longueur de tube de 180 mm. La raison en est la suivante :

Dans la pratique l'épaisseur du couvre-objet employé est très souvent sensiblement plus grande que celle pour laquelle l'objectif a été calculé. En effet, il ne faut pas seulement prendre en considération l'épaisseur de la lamelle toute seule mais aussi celle de la préparation elle-même et du milieu dans lequel elle est montée. Pour remédier à ce surcroît d'épaisseur on est obligé de *raccourcir* le tube à tirage, parfois assez considérablement (voir page 99) pour rétablir les corrections de l'objectif. On voit tout de suite que si l'objectif a été corrigé pour une longueur de tube de 160 mm. et que le corps du microscope a une longueur de 150 à 155 mm. (ce qui est généralement le cas), il arrive que souvent on ne peut pas enfoncer suffisamment le tube à tirage pour obtenir les meilleures images que les objectifs sont capables de donner. En d'autres termes, pour beaucoup de travaux tels que l'histologie, l'anatomie pathologique, etc., où on a à étudier des coupes souvent assez épaisses, *il est matériellement impossible de voir les images avec le maximum de netteté*. La situation serait toute autre si tous les objectifs étaient corrigés pour une longueur de 180 mm. car, le tube à tirage pouvant être raccourci sur la plupart des statifs jusqu'à 150 mm. et allongé jusqu'à 200 mm. au moins, on aurait plus de latitude des deux côtés pour les corrections nécessaires.

Monture à correction. — Les objectifs de faible ouverture numérique sont peu sensibles aux différences d'épaisseur de la lamelle couvre-objet. Il n'en est plus de même

dès que l'on aborde les objectifs de 0,50 O. N. environ et au-dessus. Pour cette raison les objectifs puissants à sec et les immersions à eau sont souvent pourvus d'une monture à correction. Les objectifs à immersion homogène, étant peu sensibles aux variations de l'épaisseur de la lamelle, ne sont pas munis de ce dispositif. La monture à correction, appelée aussi collier à correction, se compose d'une bague qui encercle la monture de l'objectif. Cette bague porte des divisions correspondant à de différentes épaisseurs de couvre-objet variant de 0,1 à 0,2 mm. En faisant tourner la bague et en amenant au devant d'un repère la division choisie, on fait varier la distance entre les combinaisons de l'objectif et on le corrige automatiquement pour l'épaisseur de lamelle correspondante. Il va sans dire que, même si l'on connaissait exactement l'épaisseur de la lamelle utilisée, l'on n'obtiendrait que des résultats approximatifs en se fiant uniquement aux divisions de la monture à correction car on n'aurait pas tenu compte de l'épaisseur du milieu de montage et de la préparation. Les divisions ne servent donc pas à grand chose et le seul moyen de bien régler la bague est d'après l'aspect de l'image observée au microscope. Nous indiquons la façon de procéder à la page 95.

La monture à correction augmente sensiblement le prix (souvent de plus d'un tiers) des objectifs. De plus, elle a l'inconvénient de rendre plus difficile le centrage exact de leur diverses combinaisons. A cause de cela beaucoup de maisons d'optique ont complètement abandonné sa fabrication laissant au micrographe le soin de corriger les écarts de l'épaisseur du couvre-objet en faisant varier la longueur du tube à tirage du microscope. Ce serait peut-être là la meilleure méthode si les objectifs étaient corrigés pour une longueur de tube de 180 mm. laissant ainsi une latitude suffisante pour effectuer toutes les corrections qui pourraient être nécessaires.

Objectif à sec. — Les objectifs à sec sont, comme leur nom l'indique, ceux dont la lentille frontale n'est en con-

tact avec aucun autre milieu sauf l'air. Ils ont été les premiers en date de découverte car le microscope composé semble avoir été inventé entre 1590 et 1609 par les lunetiers Hans et Zacharie Janssen ou leur confrère Hans Lippershey à Middelburg, en Hollande.

Les objectifs à sec sont les plus commodes à employer à la condition expresse de ne pas choisir ceux ayant une distance focale de moins de 4 mm. Les objectifs ayant une moindre distance focale ont une *distance frontale* (c'est-à-dire l'espace libre qui sépare la surface inférieure de la lentille frontale de la surface supérieure de la lamelle couvre-objet) tellement petite qu'il est souvent impossible de mettre au point une préparation un peu épaisse avant que la lentille frontale ne vienne buter contre le couvre-objet. Pour les objectifs plus puissants il vaut donc mieux donner la préférence aux objectifs à immersion.

Objectifs à immersion à eau. — Les objectifs à immersion à eau sont ceux dont la lentille frontale est en contact avec de l'eau distillée qui remplit l'espace entre elle et la lamelle couvre-objet. Ils ont été inventés en 1815 par le Professeur Amici de Modène et perfectionnés plus tard par Hartnack et Prazmowski de Paris.

Après avoir joui d'une grande vogue, les immersions à eau sont maintenant très peu employées au point que certaines maisons d'optique ont cessé de les fabriquer. Nous croyons que c'est une erreur de les délaisser de cette façon car elles possèdent sur les immersions homogènes certains avantages très marqués.

En premier lieu, lorsqu'on étudie une préparation montée dans un liquide peu visqueux, eau, sérum, urine, etc., il arrive très souvent, si l'on se sert d'une immersion homogène, que la viscosité supérieure de l'huile de cèdre fait que le couvre-objet adhère plus fortement à la lentille frontale de l'objectif qu'à la préparation elle-même. La lamelle est ainsi entraînée et déplacée lorsqu'on essaye d'explorer

la préparation à l'aide de la platine à chariot, contre-temps qui gêne beaucoup le travail.

De plus, quand on a à étudier un grand nombre de préparations, en utilisant une immersion à eau on n'est pas obligé de nettoyer chaque préparation après l'avoir examinée car l'eau distillée s'évapore sans laisser de traces sur la lamelle. On est à l'abri aussi des inconvénients qui résultent avec l'huile de cèdre lorsqu'on a oublié d'essuyer l'objectif après usage.

Enfin, pour des travaux de routine du laboratoire l'objectif à immersion homogène n'est pas très supérieur à l'immersion à eau du point de vue de la définition et du pouvoir séparateur, surtout en combinaison avec un appareil d'éclairage aussi peu efficient que le condensateur Abbé. En effet, dans le premier cas on a une ouverture numérique effective de 0,90 contre 0,82 en employant une immersion à eau (avec le condensateur Abbé), c'est-à-dire la possibilité de résoudre en lumière blanche 34161 lignes par cm. contre 31124. La différence, comme on le voit, est peu appréciable pour les travaux ordinaires.

Objectifs à immersion à l'huile de cèdre ou à immersion homogène. — Les objectifs à immersion à l'huile de cèdre sont ceux pour lesquels l'huile de cèdre sert à combler l'espace entre la lentille frontale et la préparation. Ils sont aussi nommés objectifs à immersion homogène parce que l'huile de cèdre a environ le même indice de réfraction que le verre (1,515) et que, par conséquent, la préparation et l'objectif ne forment qu'un tout du point de vue optique.

Les objectifs à immersion homogène ont été les derniers à apparaître sur la scène. Depuis Amici les opticiens avaient pressenti les avantages qui découleraient de l'utilisation d'un milieu d'immersion ayant un plus grand indice de réfraction que l'eau. A diverses époques des liquides variés avaient été essayés et, en 1873, Tolles, de Boston, avait construit des objectifs avec lesquels le baume de Canada

était employé comme milieu d'immersion. Enfin, d'après les suggestions de H. Stephenson, de Londres, le Professeur Abbé de Jena commença, en 1876, ses célèbres travaux dont le résultat fut l'objectif à immersion à l'huile de cèdre tel que nous le connaissons aujourd'hui.

L'objectif à immersion homogène est très supérieur aux objectifs à sec car on peut lui donner des ouvertures numériques beaucoup plus grandes. En outre, un objectif à immersion présente sur un objectif à sec de la *même ouverture numérique* les avantages d'une plus grande distance frontale et d'une plus grande luminosité due à ce qu'aucune partie des rayons n'est perdue par réflexions sur la lentille frontale.

Limite du grossissement utile des objectifs. — D'après le calcul basé sur le nombre de lignes par centimètre que peut distinguer l'œil normal, il est démontré qu'avec un objectif de 1,40 d'ouverture numérique un grossissement de 540 diamètre environ est suffisant à mettre en évidence tout le détail que l'objectif en question est capable de révéler. (Sous les meilleures conditions l'œil normal peut séparer 98 lignes environ par cm. en lumière blanche. Un objectif de 1,40 O. N. peut en séparer 53139. — $53139 : 98 = 540$). Cela veut dire qu'en augmentant le grossissement au delà de cette limite on ne fait qu'agrandir les détails déjà révélés sans en faire apparaître de nouveaux. Mais l'œil a besoin, pour le voir commodément et sans fatigue, qu'un détail soit plus amplifié que ne le réclame la théorie et dans la pratique on a avantage à doubler le chiffre théorique. Il est généralement admis que la limite du grossissement utile d'un objectif, que l'on ne gagne rien à dépasser, est de 1.000 fois la valeur de son ouverture numérique.

Exemple : Avec un objectif de 0,30 O. N. le grossissement utile maximum est de 300 diamètres linéaires.

Avec un objectif de 1,30 il est de 1.300.

Indice optique. — De ce qui a été écrit plus haut il est clair qu'il y a une relation très étroite entre l'ouverture numérique d'un objectif et son grossissement utile. En effet, si un grossissement de 540 suffit à montrer à un œil exercé tout le détail qu'un objectif de 1,40 O. N. est capable de révéler, il s'ensuit que théoriquement tout objectif devrait avoir une ouverture numérique de 0,26 pour chaque grossissement de 100 ($1,40 : 5,4 = 0,26$).

En d'autres termes, un objectif de 0,26 O. N. grossissant 100 fois, ou un de 0,52 O. N. grossissant 200 fois (grossissement total avec l'oculaire) révèlent à l'œil expérimenté tout le détail que peuvent montrer les objectifs en question. Un objectif de 4 mm. de D. F. et de 0,26 O. N. qui donnerait un grossissement total de 400 avec l'oculaire x 10 serait un mauvais objectif car la majeure partie de son grossissement ne ferait qu'agrandir les détails déjà résolus sans en déceler de nouveaux.

M. E. Nelson, de Londres, a donc suggéré une nouvelle formule pour reconnaître la valeur optique d'un objectif. Elle consiste à multiplier l'ouverture numérique par 1000 et à diviser le résultat par le *grossissement propre* de l'objectif. Le quotient ainsi obtenu donne un chiffre que M. Nelson a nommé *Indice optique*. Un objectif a d'autant plus de valeur du point de vue optique que son indice optique est plus proche du nombre 26. L'objectif idéal aurait un indice optique de 26 exactement.

Ainsi, en reprenant l'objectif dont il a été déjà question plus haut, il est facile de voir que si l'on comparait cet objectif de 4 mm. de distance focale et de 0,26 O. N. avec, par exemple, un de 16 mm. et de la même ouverture numérique, l'avantage resterait au second. En effectuant le calcul on trouve :

Pour le 1^{er} objectif (dont le grossissement propre est de 62,5).

$$\frac{0,26 \times 1000}{62,5} = \frac{260}{62,5} = 4,16$$

Pour le 2^e objectif (grossissement propre = 15,6).

$$\frac{0,26 \times 1000}{15,6} = \frac{260}{15,6} = 16,66$$

On voit que l'indice optique est de 16,66 pour l'objectif de 16 mm. tandis qu'il n'est que de 4,16 pour celui de 4 mm.

II. OCULAIRES.

Les oculaires peuvent être divisés en trois grands groupes :

1) Les oculaires ordinaires ou d'Huyghens employés avec les objectifs achromatiques.

2) Les oculaires compensateurs employés avec les objectifs apochromatiques.

3) Les oculaires variés servant à différents usages.

1) *Les oculaires d'Huyghens.* — Les oculaires d'Huyghens sont composés de deux lentilles dont la convexité est tournée vers l'objectif. On les emploie avec les objectifs achromatiques ordinaires. Ils sont fabriqués en diverses puissances et sont numérotés, suivant les constructeurs, en chiffres arabes et romains. Ces signes sont purement arbitraires et ne correspondent pas d'un opticien à un autre. Il serait donc à souhaiter que toutes les maisons marquent sur chacun de leurs oculaires son grossissement propre et sa distance focale en mm.

Les oculaires d'Huyghens les plus usuels sont les suivants :

Distance focale en mm.	Grossissement propre
75	3
50	5
36	7
25	10
20	12
17	15

Les oculaires les plus utiles sont celui de 50 mm. de distance focale $\times 5$ et celui de 25 mm. $\times 10$.

Les oculaires compensateurs. — Les oculaires compensateurs sont composés d'un système de lentilles destiné à produire un certain degré de sur-correction. Cette sur-correction annule la sous-correction qui est toujours présente dans les objectifs apochromatiques. Il est bon de signaler ici en passant que les objectifs semi-apochromatiques et les objectifs achromatiques puissants à partir de 4 mm. de distance focale présentent aussi de la sous-correction et donnent, par conséquent, une meilleure image lorsqu'ils sont employés avec les oculaires compensateurs.

Les oculaires compensateurs sont généralement distingués par des numéros exprimant leur grossissement propre, bien que chez certains fabricants les numéros en question ne correspondent pas avec les grossissements propres véritables.

Les oculaires compensateurs les plus fréquemment rencontrés sont les suivants :

Distance focale en mm.	N° d'ordre et grossissement propre
83	3
50	5
36	7
25	10
17	15
12,5	20

Les oculaires les plus généralement utiles sont celui de 50 mm. de distance focale $\times 5$ et celui de 25 mm. $\times 10$.

Les oculaires variés. — Les oculaires variés comprennent :

Des oculaires destinés, grâce à un dispositif pour régler leur degré de correction, à être utilisés aussi bien avec les objectifs achromatiques qu'avec les apochromates, épar-

gnant ainsi au micrographe la nécessité d'avoir deux séries d'oculaires (Oculaires « Holoscopic » de Watson).

Des oculaires ayant pour but de réduire dans la mesure du possible la grande courbure du champ des objectifs puissants, surtout des apochromatiques. (Oculaires « Périplanétiques », de Leitz, « Tellaugic compensating » de Swift pour les apochromates. « Gifford orthochromatic » de Baker, « Hyperplane » de Bausch et Lomb, « Planachromatiques » de Nachet, « Planoscopie » du Spencer Lens Co », « Tellaugic » de Swift pour les objectifs achromatiques).

Des oculaires microphotographiques. Oculaires à projection, « Homals » de Zeiss, etc.

Des oculaires micrométriques, spectroscopiques, indicateurs, coudés, doubles, etc.

Diamètre des oculaires. — Le diamètre externe de la monture des oculaires doit être tel qu'ils puissent entrer sans être trop serrés ni trop lâches dans l'extrémité supérieure du tube à tirage du microscope, dont le calibre interne est de 23,3 mm. Un diamètre externe de 23,2 mm. est le meilleur.

III. CONDENSATEURS.

Les condensateurs tombent dans deux grandes subdivisions :

A) Les condensateurs à fond clair. B) Les condensateurs à fond noir.

A) *Les condensateurs à fond clair.* — Les condensateurs à fond clair appartiennent à deux catégories :

1) Les condensateurs à sec. 2) Les condensateurs à immersion.

Un bon condensateur est presque aussi soigneusement corrigé qu'un objectif et ne peut être employé indifféremment à sec ou immergé sans perdre de ses qualités optiques.

1) *Les condensateurs à sec.* — Les condensateurs à sec peuvent être rangés dans deux groupes : a) Les condensateurs ordinaires non achromatiques et non aplanétiques, dont le type est le condensateur Abbé ; b) Les condensateurs achromatiques et aplanétiques.

a) *Le condensateur ordinaire type Abbé.* — Ce condensateur, inventé — ou plutôt réinventé — par le Professeur Abbé en 1872, est le plus employé de tous, à cause de son bas prix et la facilité de son maniment. Il est fabriqué en deux modèles, le premier à deux lentilles et d'une O. N. de 1,20, le second à trois lentilles et d'une O. N. de 1,40 (1).

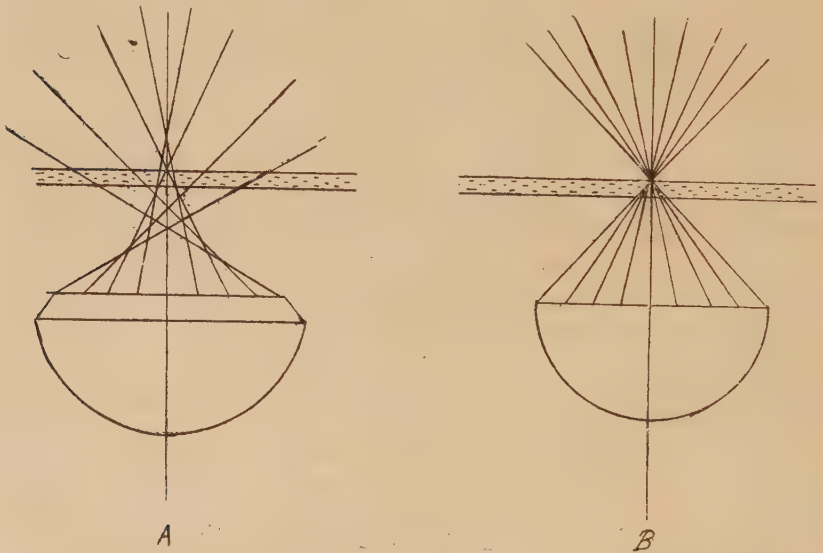


FIG. 3

Malheureusement, ces chiffres n'indiquent que *l'ouverture numérique totale* car les corrections du condensateur Abbé sont si médiocres que les rayons lumineux ne sont pas condensés en un seul et même point, les rayons obliques ayant un foyer plus court que les rayons centraux (Fig. 3. A.).

(1) Ces chiffres 1,20 et 1,40 représentent l'O. N. totale du condensateur Abbé lorsque sa lentille supérieure est reliée à la lame par une goutte d'huile de cèdre. L'O. N. totale d'un condensateur à sec ne peut dépasser 1,0.

Pour cette raison, il est impossible d'employer l'O. N. totale, et l'O. N. *aplanétique* — la seule utilisable — n'est que de 0,50 environ pour les deux types, même lorsqu'ils sont immergés.

Il est donc clair que, bien que le condensateur Abbé suffise pour les objectifs dont l'O. N. ne dépasse pas 0,70 environ, avec les objectifs à plus grande O. N. on ne peut l'employer sans sacrifier une grande partie des avantages de leur O. N. élevée. En effet, l'O. N. *effective* d'un objectif s'obtient en additionnant son O. N. et l'O. N. *aplanétique* du condensateur et en divisant le total par 2. En employant, par exemple, un condensateur Abbé avec un objectif de 1,30 O. N. on réduit son O. N. à 0,90 seulement, ($1,30 + 0,50 = 1,80$. $1,80 : 2 = 0,90$) ou en d'autres termes on sacrifie 30 % de son pouvoir séparateur. Ce point est important à retenir car nous avons vu nous même des personnes se servir d'un condensateur Abbé avec des objectifs apochromatiques, tandis qu'elles auraient obtenu des résultats très supérieurs à beaucoup moins de frais en se munissant de simples objectifs achromatiques et d'un bon condensateur achromatique et aplanétique. (Un condensateur achromatique à sec, par exemple, a une O. N. aplanétique de 0,95 environ. Utilisé avec un objectif de 1,30 O. N., on aura $1,30 + 0,95 = 2,25$ $2,25 : 2 = 1,125$).

b) *Les condensateurs achromatiques et aplanétiques.* — Pour obtenir le maximum de rendement d'un objectif à grande ouverture numérique, le condensateur chromatique ordinaire ne peut suffire. Il est impossible, en effet, qu'un objectif, même le plus parfait, puisse donner une image exempte de franges colorées si le cône lumineux qui lui est fourni par le condensateur n'est pas lui-même achromatique ; l'achromatisme du condensateur est donc indispensable. En plus, comme il a été dit plus haut, il faut que l'ouverture numérique *aplanétique* du condensateur ne soit pas trop inférieure à l'ouverture numérique de l'objectif avec lequel il est utilisé, ce qui implique une

bonne correction de l'aberration sphérique. Pour ces raisons, les opticiens ont produit des condensateurs dont les corrections rivalisent avec celles des meilleurs objectifs. Ces condensateurs, dénommés condensateurs achromatiques et aplanétiques ou plus simplement condensateurs achromatiques, se composent généralement de cinq lentilles. Ils condensent les rayons lumineux rigoureusement en un seul point, produisant ainsi une image parfaitement nette et achromatique de la source éclairante (fig. 3 B.). Grâce à ce perfectionnement, leur ouverture numérique aplanétique peut atteindre et même dépasser 0,95, leur ouverture numérique totale étant de 1,0.

Les condensateurs achromatiques sont très sensibles à l'épaisseur des lames et ne montrent toutes leurs qualités optiques que si cette épaisseur est celle pour laquelle ils ont été corrigés. La plupart des opticiens corrigent leurs condensateurs pour une épaisseur de lame de 1,5 mm. Ce sujet est traité à la page 100.

N. B. — Certaines maisons d'optique fabriquent un condensateur intermédiaire entre le condensateur Abbé et le condensateur achromatique, c'est le condensateur Abbé à trois lentilles aplanétisé. Par contre, ce condensateur n'est pas achromatique, et on est obligé de l'employer en lumière monochromatique pour en tirer le meilleur parti. Il est, somme toute, très inférieur au condensateur achromatique et aplanétique.

b) *Le condensateur à immersion.* — L'ouverture numérique des condensateurs à sec ne pouvant être plus grande que 1,0, il est clair que pour dépasser cette limite il faudrait relier la lentille supérieure du condensateur et la lame de la préparation avec une goutte d'huile de cèdre. Ce ci a été réalisé dans les condensateurs achromatiques et aplanétiques *à immersion*. Ces condensateurs, composés pour la plupart de six lentilles, ont une ouverture numérique aplanétique de 1,30 à 1,40 et permettent par consé-

quence d'utiliser en totalité l'ouverture numérique des objectifs à immersion.

Les condensateurs à immersion peuvent aussi être employés à sec, dans ce cas leur ouverture numérique maximum ne peut naturellement dépasser 1,0. On sacrifie aussi une partie de leurs qualités optiques, car leur formule a été calculée pour qu'ils soient utilisés immergés.

Les condensateurs à immersion ont un très petit foyer et en général on ne peut employer des lames dont l'épaisseur dépasse 1,5 mm. pour les condensateurs de 1,30 O. N. et 1 mm. à 1,3 mm. pour les condensateurs de 1,40 O. N.

Tous les condensateurs, quel que soit le type auquel ils appartiennent, projettent dans le plan de la préparation une image très réduite de la source lumineuse. Pour cette raison, cette image ne peut remplir tout le champ des objectifs de faible puissance. On peut remédier à cet inconvénient en dévissant la lentille ou la combinaison supérieure du condensateur, qui donne alors une image moins brillante, mais plus étendue de la source éclairante. Certains opticiens fabriquent aussi des condensateurs à longue distance focale spécialement conçus pour être employés avec les très faibles objectifs : Condensateur Nelson (Baker), « Macro-illuminator » (Watson), Condensateurs à verres de besicles (Zeiss), etc...

Diaphragme Iris. — Tout condensateur doit être pourvu d'un diaphragme iris inamovible formant partie de la monture. Le plan de cet iris doit coïncider avec le plan focal inférieur du condensateur et son centre doit rigoureusement coïncider avec l'axe optique du condensateur, afin de permettre un bon centrage de ce dernier avec l'axe optique de l'objectif avec lequel il est employé. Il est très commode si la monture annulaire de l'iris porte des subdivisions numérotées le long de l'arc décrit par le levier de commande, car cela permet de connaître à quelle ouverture numérique du condensateur correspond une ouverture donnée de l'iris.

Pour savoir la valeur des subdivisions, il suffit de mettre sur le microscope un objectif d'ouverture numérique connue, de 0,20 O. N. par exemple, et d'observer sa lentille postérieure après avoir enlevé l'oculaire (1). On ferme lentement l'iris jusqu'à ce que son image apparaisse à la périphérie de la lentille postérieure. On sait alors que la subdivision en face du levier correspond à une ouverture de l'iris qui réduit l'ouverture numérique du condensateur à 0,20. En continuant la comparaison avec des objectifs à ouverture numérique croissante, on peut déterminer la valeur de chaque graduation. Enfin, le condensateur doit être muni d'un anneau porte-diaphragme placé sous l'iris.

Les condensateurs à sec et à immersion comparés. — Y a-t-il avantage de se munir d'un condensateur achromatique et aplanétique à sec ou à immersion ?

L'expérience a prouvé qu'aucun objectif, même le meilleur, n'est capable de supporter sans détérioration de l'image un cône d'éclairage égal à son ouverture numérique totale. La plupart des objectifs ne peuvent supporter qu'un cône égal aux $3/4$ de leur O. N. Il en est de très rares — et parmi les apochromates seulement — qui peuvent supporter un cône de $4/5$ de leur O. N. et de tout à fait exceptionnels qui en supportent un de $5/6$.

Or, les $3/4$ d'une O. N. de 1,40 n'est que 1,05 et d'une O. N. de 1,30 n'est que 0,97. Il semblerait donc qu'un condensateur achromatique à sec, dont l'ouverture numérique aplanétique atteint presque 1,0, serait suffisant pour fournir le plus grand cône d'éclairage que l'objectif puisse utiliser avec profit.

Malheureusement, les condensateurs à sec ont aussi certains désavantages. Ils sont très sensibles à l'épaisseur de la lame et si celle-ci diffère un peu de celle pour laquelle le

(1) L'objectif et le condensateur ont été mis préalablement au point sur une préparation quelconque.

condensateur a été corrigé, ses qualités optiques sont compromises. Ceci implique la nécessité de faire chaque fois la correction pour l'épaisseur de la lame, manipulation qui n'a pas de raison d'être avec les condensateurs à immersion qui sont reliés à la lame par un liquide ayant le même indice de réfraction qu'elle.

A cause de leur ouverture numérique plus grande et parce que la perte de lumière par réflexion sur la surface inférieure de la lame est évitée, les condensateurs à immersion ont une luminosité supérieure à celle des condensateurs à sec, qualité précieuse pour le travail à de forts grossissements et surtout pour la microphotographie. Enfin, si on a la bonne chance de détenir un de ces objectifs privilégiés de 1,40 O. N. qui peuvent supporter un cône de $5/6$ de leur ouverture, c'est-à-dire de 1,16, le supplément de pouvoir séparateur conféré par le condensateur à immersion n'est pas à dédaigner. (Il va sans dire qu'un condensateur à immersion ne fournira une ouverture numérique de 1,40 que pour les préparations montées dans un milieu à indice de réfraction égal ou supérieur à ce même nombre, comme le baume de Canada, l'huile de cèdre, etc. L'ouverture numérique maximum du condensateur sera de 1,33 pour une préparation montée dans de l'eau, du sérum, etc., et de 1,0 pour une préparation à sec contenant une couche d'air entre la lame et la lamelle).

Le revers de la médaille est constitué par la nécessité de nettoyer après usage le condensateur et le dessous des préparations et par la tendance de l'huile de cèdre de se répandre sur la platine et la sous-platine. Ces inconvénients, toutefois, nous semblent moins importants que les avantages, et pour les travaux les plus délicats nous conseillons l'emploi d'un condensateur à immersion. Le modèle de 1,30 O. N. est généralement à préférer, car il fournit tout le cône d'éclairage qu'un objectif — même un de 1,40 O. N., — peut utiliser, joint à une distance focale supérieure.

2) *Les condensateurs à fond noir* (1).

Pour des raisons optiques, *tous* les condensateurs à fond noir sont à immersion, aucun ne peut être utilisé à sec. Presque tous ces condensateurs sont à immersion homogène, mais certains modèles peuvent donner des résultats avec de la glycérine ou de l'eau distillée.

Les condensateurs à fond noir appartiennent à deux types principaux : a) *Les condensateurs paraboliques* ; b) *Les condensateurs à miroirs sphériques*.

Avec la forme parabolique, on obtient des cônes plus larges. Le condensateur « Cassegrain » de Watson permet d'utiliser toute l'ouverture d'un objectif de 1,40 si l'indice de réfraction de la préparation dépasse 1,42. Pour les préparations montées dans du sérum ou de l'eau (I. R. = 1,33), l'ouverture numérique effective est de 1,32.

Les condensateurs à miroirs donnent des images plus nettes et plus lumineuses. Le condensateur à images lumineuses de Zeiss permet l'emploi à pleine ouverture d'un objectif de 1,30, le condensateur réglable de Beck d'un objectif de 1,20 O. N. Ce dernier condensateur possède un dispositif grâce auquel il peut être employé avec des lames variant en épaisseur de 0,5 à 1,5 mm. Avec les lames de 1,5 mm., un objectif de 1,0 O. N. peut être utilisé, les lames de 0,5 mm. permettent l'emploi d'un objectif de 1,20 O. N.

La plupart des condensateurs à fond noir couramment employés ne dépassent pas en général 0,9 d'O. N. Pour obtenir avec eux un fond parfaitement noir, il faut utiliser des objectifs dont l'ouverture numérique soit inférieure, ou bien réduire leur ouverture numérique à l'aide d'un diaphragme convenable (diaphragme à entonnoir), placé aussi près que possible de la lentille postérieure.

(1) Le condensateur à fond noir est parfois improprement dénommé « Ultramicroscope », appellation qui doit être réservée à l'appareil d'éclairage latéral de Siedentopf et Zsigmondy.

Les condensateurs à fond noir sont fabriqués en deux modèles : le premier a la forme générale d'un condensateur ordinaire et se place sous la platine dans le cylindre porte-condensateur. Le deuxième modèle (dit condensateur à plateau ou en surplatine) se place, comme son nom l'indique, sur la platine du microscope et est maintenu en position par les pince-valets. Le premier modèle est de beaucoup le plus préférable. La deuxième forme ne permet pas l'utilisation d'une platine à chariot, car celle-ci doit être enlevée du microscope pour être remplacée par le condensateur à plateau.

Il est de la plus haute importance que tout condensateur à fond noir soit muni d'un système efficace de centrage (si le cylindre porte-condensateur n'est pas déjà pourvu de vis de centrage), car on ne peut obtenir des résultats satisfaisants s'il n'est pas bien centré avec l'axe optique de l'objectif avec lequel on travaille.

Les condensateurs alternatifs. — Un certain nombre d'opticiens (Koristka, Leitz, Reichert, Zeiss, etc.) fabriquent des condensateurs à fond noir qui, par le déplacement d'un diaphragme central, peuvent être instantanément transformés en condensateur à fond clair sans qu'il soit nécessaire de retirer l'œil de l'oculaire du microscope. Ces condensateurs, dits condensateurs alternatifs, peuvent rendre de grands services, car ils permettent d'étudier la préparation rapidement et facilement dans tous ses aspects sous les deux éclairages différents. Il faut noter seulement qu'un condensateur à fond noir employé ainsi comme un condensateur à fond clair n'est qu'un pis-aller, car son ouverture numérique est très petite, inférieure même à celle d'un condensateur Abbé ordinaire.

Diamètre des condensateurs. — La monture des condensateurs, tant à fond clair qu'à fond noir, doit avoir un diamètre externe tel qu'ils puissent entrer sans être trop serrés ni surtout trop lâches dans le tube porte-condensateur

dont le calibre interne est de 38,786 mm. Ce calibre, proposé par le « Royal Microscopical Society » de Londres, a été adopté par tous les constructeurs anglais, par Reichert et par le Spencer Lens Co.

CHAPITRE III

Choix d'un Microscope et Tests pour le Microscope

I. Choix d'un microscope. — En choisissant un microscope destiné à n'importe quel usage, il existe trois règles que l'on ne peut négliger sans s'exposer à de graves mécomptes : 1) Il faut que l'instrument porte la marque d'une maison d'optique de bonne renommée ; 2) Qu'il soit d'un modèle moderne ; 3) Qu'il soit *neuf*. Il est dangereux d'acheter un microscope d'occasion à moins d'avoir une connaissance approfondie du sujet.

Il est préférable de choisir un microscope fini au vernis noir car ce dernier est beaucoup plus résistant que le cuivre laqué. Certains de ces vernis ne craignent même pas l'action de l'alcool qui a vite fait d'enlever le laque. Il faut aussi exiger autant que possible que les calibres des diverses parties du microscope soient ceux donnés dans les descriptions ci-dessous. Ce serait le seul moyen d'obliger peu à peu tous les opticiens à les adopter unanimement.

Nous décrirons trois types de microscope : 1) Microscope de petit modèle à l'usage des étudiants ou pour les travaux à faibles grossissements ; 2) Microscope de moyen ou grand modèle à l'usage des médecins praticiens pour les travaux courants ; 3) Microscope de modèle très complet pour les recherches les plus délicates.

1) MICROSCOPE DE PETIT MODÈLE A L'USAGE DES ÉTUDIANTS
— On ne pourrait trop conseiller l'achat, dès le commen-

cement d'un statif de moyen ou de grand modèle, même en sacrifiant un peu l'optique qui pourra être complété plus tard. Toutefois les petits microscopes ne sont pas à dédaigner car ils peuvent rendre des services sérieux à ceux dont les fonds sont limités ou qui n'ont besoin d'entreprendre que des travaux élémentaires ; dissections, certaines études d'histologie, de parasitologie, de pharmacologie, de zoologie, de botanique, etc.

La première question qui se pose à propos des petits statifs est la suivante : Est-il plus avantageux de choisir le modèle qui n'est muni que d'un mouvement de mise au point rapide par pignon et crémaillère ou bien celui qui possède un mouvement lent par vis micrométrique et un simple tube coulissant pour la mise au point rapide ? A notre avis, si le travail projeté ne nécessite pas de grossissements supérieurs à 400 diamètres environ, il faut choisir le premier modèle sans aucune hésitation. La seconde forme est cause de tant d'inconvénients et de perte de temps dus à son maniement malaisé qu'il vaut mieux la rejeter absolument. Si le travail à entreprendre a besoin de grossissements plus considérables, il faut à tout prix se munir d'un statif plus grand comprenant les deux mécanismes de mise au point.

Ce point décidé, les détails essentiels d'un microscope qui doit être robuste, peu coûteux et réduit pour ainsi dire à sa plus simple expression, peuvent se résumer dans le tableau suivant :

Statif. — 1) Pied sans charnière d'inclinaison.

2) Mécanisme de mise au point rapide par crémaillère et pignon à dents obliques de construction soignée.

3) Corps pouvant prendre les objectifs ayant le pas de vis universel et possédant un tube à tirage donnant une longueur totale variable de 140 à 180 mm. Le tube à tirage ne portera pas d'échelle graduée, mais un simple trait gravé correspondra à la longueur de 160 mm. L'extrémité infé-

rieure du tube à tirage sera filetée pour recevoir les objectifs de très longue distance focale et l'extrémité oculaire aura un diamètre interne de 23,3 mm.

4) Platine carrée fixe de 9 cm. au moins de côté munie de deux pinces-valets.

5) Sous-platine constituée par un simple tube cylindrique du calibre interne de 38,786 mm.

6) Miroir plan.

Optique. — 1) *Objectifs.* Achromates de 16 et de 4 mm. de distance focale à ouverture numérique réduite ; de 0,18 pour le premier et de 0,65 environ pour le second. Si le travail n'a besoin que de très faibles grossissements on pourrait donner la préférence à un objectif de 32 et un de 8 mm.

2) *Oculaires.* — L'oculaire de Huyghens de 50 mm. de distance focale $\times 5$ doit être choisi le premier, ensuite celui de 25 mm. $\times 10$.

3) *Condensateur.* — Abbé ordinaire à deux lentilles avec diaphragme iris et porte-diaphragme.

Si le travail est effectué exclusivement avec des objectifs très faibles ne dépassant pas 8 mm. de distance focale, on pourrait à la rigueur se passer de condensateur. Le tube porte-condensateur sera alors remplacé par un diaphragme à disque tournant et le miroir plan par un concave.

Accessoires. — L'accessoire le plus important à ajouter sera un revolver double.

2) MICROSCOPE A L'USAGE DES MÉDECINS PRATICIENS (OU des étudiants avancés). a) *Statif moyen.* — 1) Pied avec charnière d'inclinaison.

2) Mécanisme de mise au point rapide par crémaillère et pignons à dents obliques.

3) Mécanisme de mise au point lent de modèle moder-

ne, préférablement par vis micrométrique et levier vertical ou horizontal.

4) Corps muni d'un tube à tirage gradué donnant une longueur totale variable de 140 à 200 mm. Le tube à tirage sera en nickel et la bague dans laquelle il glisse sera revêtue intérieurement d'étoffe. Il sera fileté à son extrémité inférieure pour recevoir les objectifs de très longue distance focale et sera muni d'un diaphragme d'un diamètre libre de 1,75 cm. au moins. Son extrémité supérieure aura un diamètre interne de 23,3 mm. et présentera, à une profondeur de 2,5 cm. environ, une légère augmentation de diamètre pour éviter le polissage par les oculaires longs. L'intérieur des tubes sera soigneusement noirci.

5) Revolver double ou triple.

6) Platine carrée fixe de 10 cm. de côté recouverte d'ébène ou d'une substance analogue et munie d'une platine à chariot avec ou sans échelles graduées et verniers.

7) Sous-platine *centrable* avec mécanisme de mise au point par vis latérale. Diamètre intérieur du tube porte-condensateur = 38,786 mm.

8) Miroir double de 50 mm. de diamètre.

Optique. — 1) *Objectifs.* — Achromates de 16 mm. de distance focale, 0,18 O. N. et de 4 mm. à ouverture numérique réduite (0,75 environ) afin d'avoir une distance frontale suffisante pour travailler avec les chambres à compter, etc. Achromate de 2 mm. de distance focale à immersion à eau ou à huile de cèdre d'une ouverture numérique ne dépassant pas 1,30.

2) *Oculaires.* — Oculaires de Huyghens de 50 et de 25 mm. de distance focale, $\times 5$ et $\times 10$.

(Si les moyens le permettent on pourrait, avec avantage, ajouter à la trousse un objectif de 8 mm. de distance focale et un oculaire compensateur de 25 mm. de distance focale $\times 10$ pour utiliser l'objectif de 4 mm. et avec l'immersion).

3) *Condensateur*. — Abbé ordinaire à deux lentilles (ou si possible un condensateur achromatique à sec) avec diaphragme iris et porte-diaphragme.

Condensateur à fond noir du système à miroirs interchangeable avec le condensateur Abbé.

Grand statif. — Le grand statif sera semblable quant à ses points essentiels au statif moyen décrit ci-dessus. Les seules différences consisteraient dans ses dimensions supérieures, dans sa platine à chariot formant corps avec le statif et dans la sous-platine qui sera munie d'une crémaillère et pignon à dents obliques pour la mise au point du condensateur.

Optique. — 1) *Objectifs*. — Les mêmes que pour le statif précédent avec la différence que l'immersion achromatique sera remplacée par un objectif semi-apochromatique.

(Si le travail entrepris ne demande pas le maximum de pouvoir séparateur, on pourrait remplacer l'objectif à immersion homogène dans les moyens et grands statifs par une immersion à eau dont les avantages ont été mentionnés à la page 43.

2) *Oculaires*. — Les mêmes que pour le statif moyen.

3) *Condensateur*. — Condensateur achromatique à sec et condensateur à fond noir à miroirs.

3) MICROSCOPE TRÈS COMPLET POUR LES RECHERCHES DÉLICATES ET POUR LA MICROPHOTOGRAPHIE. — Ce microscope sera semblable au grand statif précédent avec les additions suivantes : Il aura un double tube à tirage avec crémaillère et pignon comme il est décrit à la page 18. Le corps sera de grand diamètre, 4 à 5 cm., et sera muni d'un diaphragme iris au-dessus du revolver. La platine à chariot fera parti intégrale du statif et sera semblable au modèle décrit à la page 24. La platine elle-même sera du type tournant avec vis de centrage et vis d'arrêt. La sous-pla-

tine centrable possédera, en plus du pignon et de la crémaillère, un mécanisme de mise au point lent. La face plane du miroir sera d'acier inoxyidable.

Optique. — 1) *Objectifs.* — Une partie ou tous les objectifs achromatiques pourraient être remplacés avec avantage par des apochromates qui donnent des résultats très supérieurs surtout en microphotographie. Si l'on remplace une partie seulement, la meilleure combinaison sera la suivante : Objectifs de 16 mm. de distance focale achromatique, 8 mm. apochromatique, 4 mm. achromatique à longue distance frontale, 2 mm. apochromatique de 1,30 ou de 1,40 O. N. (pour les avantages et les désavantages de ces deux objectifs voir la page 39).

2) *Oculaires.* — Si la trousse se compose uniquement d'objectifs apochromatiques les oculaires compensateurs de 50, de 25 et de 17 mm. de distance focale grossissant 5, 10 et 15 fois. Si la trousse est mixte il faudrait ajouter en plus les oculaires de Huyghens de 50 et de 25 mm. de distance focale. Au lieu d'avoir deux séries d'oculaires on pourrait les remplacer avec avantage par les oculaires « Holoscopie » de Watson qui peuvent être utilisés avec les deux types d'objectifs.

3) *Condensateur.* — Condensateur achromatique et aplanétique à immersion de 1,30 O. N.

Condensateur à fond noir à miroirs.

II. Tests pour découvrir les qualités ou les défauts d'un microscope.

Avant d'acheter un microscope il est prudent de lui appliquer quelques tests. Nous décrivons ci-dessous les plus importants.

Ces tests comprennent :

- A) Des tests pour le statif.
- B) Des tests pour l'optique.

A) TESTS POUR LE STATIF.

1) *Le pied.* — S'assurer que le microscope soit absolument ferme et stable même quand il est incliné à 30° au moins. Rejeter tout microscope dont le pied aura plus de trois points d'appui. La charnière d'inclinaison ne sera pas trop dure ni trop lâche ; elle doit être munie d'un levier de serrage ou bien d'une clef de serrage qui sera livrée avec l'instrument.

2) *La potence.* — L'espace libre entre la base de la potence et l'orifice de la platine doit être d'au moins 75 mm. Choisir toujours le modèle de microscope où la potence se prolonge sous la platine pour constituer le support de la sous-platine.

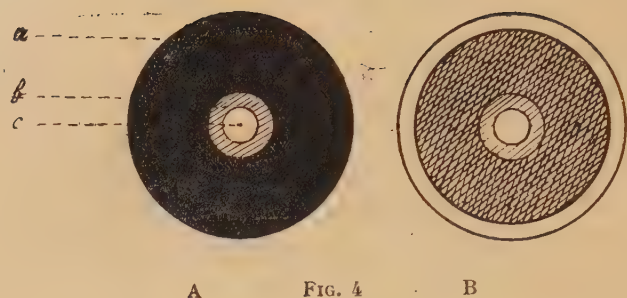
3) *Le tube.* — S'assurer que l'oculaire entre en place facilement mais sans trop de jeu et que le tube à tirage glisse librement dans le tube externe sans pourtant s'enfoncer de son propre poids.

En passant l'index par l'extrémité supérieure du tube à tirage il faut trouver à quelques cm. plus bas un léger élargissement de diamètre pour empêcher le polissage des parois par les oculaires.

Voir si l'extrémité inférieure du tube à tirage est filetée pour recevoir les objectifs de longue distance focale et si le diaphragme a une ouverture libre de 1,75 cm. environ.

Faire l'épreuve suivante : Placer sur le microscope un objectif de 4 mm. de distance focale et un oculaire $\times 10$ et mettre au point une préparation quelconque en l'éclairant de la manière ordinaire. Ouvrir complètement le diaphragme iris du condensateur, retirer l'oculaire et, en observant la lentille postérieure de l'objectif, fermer doucement l'iris jusqu'à ce que les $3/4$ seulement de la lentille postérieure ne soient éclairés.

Replacer l'oculaire et examiner sa lentille supérieure et le disque de Ramsden en reculant la tête de 15 cm. en-



viron. On doit voir l'aspect représenté en A de la figure 4. Le grand disque sombre « a » est la lentille supérieure de l'oculaire, le petit cercle concentrique plus ou moins lumineux « b » est l'image de la lentille postérieure de l'objectif et le disque brillant central « c » l'ouverture de l'iris du condensateur. Il faut que le disque « a » soit absolument et uniformément noir comme en A. S'il n'est que grisâtre, s'il présente des taches sombres ou claires ou une zone externe brillante comme en B, cela indique que des réflexions parasites entrent dans l'oculaire qui auront pour effet de diminuer la valeur optique de l'image.

Ce défaut — moins fréquent chez les statifs à corps de grand diamètre — est causé par des rayons réfléchis des parois du tube qui entrent dans l'oculaire sans avoir été arrêtés par le diaphragme au fond du tube à tirage. Cette lumière réfléchie qui traverse l'oculaire en dehors du disque de Ramsden est généralement peu intense, mais elle est suffisante pour rendre les images moins nettes et pour diminuer le contraste dans la microphotographie surtout quand les poses sont un peu longues.

Ce défaut peut être facilement remédié par le moyen suivant conseillé par M. E. M. Nelson. On découpe un disque de carton noirci au même diamètre que l'intérieur du tube à tirage ayant en son centre une ouverture circulaire de 14 mm. de largeur. Avec l'oculaire le plus long dont on a coutume de se servir on pousse ce disque dans le tube à ti-

rage et on le fait descendre à 1,5 cm. environ plus bas que l'extrémité inférieure de l'oculaire en question afin que les dimensions du champ ne soient pas réduites. Avec un diaphragme ainsi placé l'aspect du disque de Ramsden est pareil à A de la figure 4 et l'image microscopique est débarrassée de tout flou ou brouillard causé par les rayons parasites.

4) *Les mécanismes de mise au point.* a) *Le mécanisme de mise au point rapide.* — Examiner d'abord le mécanisme et noter s'il a été enduit d'une couche très épaisse de graisse. Un bon mouvement rapide ne doit montrer que peu de traces de graisse ou d'huile entre ses surfaces de contact.

Faire jouer le mécanisme d'une extrémité à l'autre de sa portée, le mouvement doit être régulier et sans secousses. Ajuster soigneusement les vis de réglage dont tous les statifs doivent être pourvus, pour que le mécanisme ne soit pas trop dur ni assez coulant pour se déplacer sous le poids d'un revolver triple ou quadruple chargé de ses objectifs, le microscope étant en position verticale.

Voir s'il n'existe pas de mouvement latéral dans la glissière de la crémaillère. Pour cela remonter le mouvement rapide jusqu'à mi-chemin de sa course totale puis, saisissant la potence de la main gauche et le tube de la main droite, imprimer au statif un mouvement de roulis. Si on ressent le moindre heurt ou secousse dans la glissière il faut rejeter l'instrument (« The Microscope » par Drew et Wright, p. 48).

Essayer le degré de finesse du mouvement rapide en mettant sur le microscope un objectif de 4 mm. de distance focale et un oculaire $\times 10$. Choisir une préparation quelconque montrant des détails délicats. Il faut que l'on puisse les mettre bien au point en se servant exclusivement du mouvement rapide. Il faut aussi que la mise au point varie au moindre fraction de tour des boutons de com-

mande, preuve qu'il n'existe aucun temps perdu dans le mécanisme.

Vérifier si le mouvement rapide s'effectue bien suivant l'axe optique du microscope. Ce test est peut-être le plus important de tous car il démontre en même temps, si le tube est perpendiculaire ou non à la surface de la platine. Avant de commencer ce test il faut être certain que le cône lumineux arrivant à l'objectif soit bien centré sur son axe optique car la moindre obliquité dans l'éclairage peut fausser complètement les résultats. Le meilleur procédé pour faire coïncider le cône éclairant avec l'axe optique du microscope est le suivant : Mettre au point le microscope (objectif de 8 mm., oculaire $\times 10$) sur une préparation quelconque en choisissant un détail qui, tout en étant bien visible, n'aie pas trop de profondeur (grain de poussière, etc.) Centrer soigneusement le condensateur (voir page 82), enlever l'oculaire et observer la lentille postérieure de l'objectif. Faire varier l'inclinaison du miroir jusqu'à ce que la lentille postérieure en question soit *uniformément* éclairée sur toute sa surface ; le cône d'éclairage est alors exactement centré. (En abaissant un peu le condensateur, l'image de la source éclairante tout entière devient visible dans la lentille postérieure de l'objectif et peut être plus facilement amenée en son centre au moyen du miroir).

Remettre l'oculaire et manœuvrer le mouvement rapide afin de mettre le détail choisi en deçà et au delà du foyer. A chaque changement de la mise au point l'image du détail en question doit devenir flou mais elle ne doit pas changer de position. Si l'image de l'objet paraît se déplacer vers la droite en deçà du foyer (au point A) et vers la gauche au delà (au point B), cela veut dire que le mouvement, au lieu de se faire suivant l'axe optique O-O', se fait suivant la ligne D-D' (Voir fig. 5). On observe d'ailleurs le même phénomène si l'axe du tube du microscope, au lieu d'être perpendiculaire à la surface de la platine,

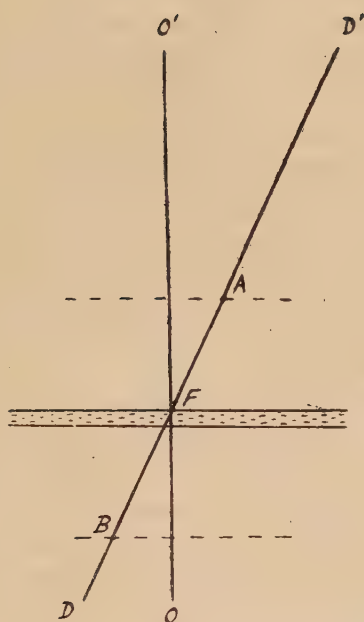


FIG. 5

faisait avec cette dernière un angle égal à $D'FC$. Dans n'importe lequel des deux cas le microscope est à rejeter.

Comme dernier test du mécanisme de mise au point rapide, mettre sur le revolver un objectif de 40 mm. de distance focale et voir si la crémaillère a une course suffisante pour pouvoir le mettre au point comme elle doit le faire si elle est bien proportionnée.

b) *Le mécanisme de mise au point lente.* — Le premier test est de vérifier la délicatesse du mouvement. Pour cela, mettre un objectif de 2 mm. de distance frontale sur le microscope. La mise au point doit s'effectuer sûrement, rapidement et sans difficulté. Il ne doit pas exister le moindre temps perdu dans le mouvement ; la plus petite fraction de tour du bouton de commande doit être aussitôt accompagnée d'une variation dans la mise au point. Il doit en être ainsi même si le microscope est *incliné à l'horizontal* et on doit faire cette vérification en divers points de la glissière.

Vérifier si le mouvement du mécanisme de mise au point lente se fait exactement suivant l'axe optique du microscope. Employer pour cela un objectif de 4 mm. de distance focale et examiner l'aspect d'un détail approprié de la préparation tout comme il a été déjà expliqué pour le test analogue du mouvement rapide. Prendre les mêmes précautions pour avoir un éclairage absolument axial.

5) *La platine.* — Vérifier si la platine a une largeur d'au moins 9 à 10 cm. et si son ouverture centrale a au moins 2,5 cm. de diamètre.

Si le statif est muni d'une platine à chariot, amovible ou non, vérifier sous un assez fort grossissement (objectif de 4 mm. de distance focale) si les mouvements se font régulièrement, sans à-coups, et si le mécanisme n'est pas trop dur ni trop lâche. Il ne faut pas non plus qu'il existe de temps perdu dans les mouvements ; la moindre fraction de rotation des boutons de commande doit être accompagnée aussitôt d'un déplacement de la préparation.

Mettre le microscope en position horizontale et s'assurer que le mouvement d'avant-arrière n'est pas si coulant, que la préparation se déplace vers le bas de son propre poids.

Vérifier aussi si le mouvement se fait dans un plan horizontal qui soit exactement à angle droit avec l'axe optique, ce qui peut être prouvé en observant si, avec un objectif à immersion de 2 mm. de distance focale, les détails d'une préparation bien plane (une culture microbienne, de *Micrococcus melitensis*, par ex.) restent constamment au point quand les diverses régions sont amenées dans le champ par le mécanisme de la platine.

Si, au lieu d'une platine carrée fixe, il s'agit d'une platine ronde tournante, s'assurer que les vis de centrage soient convenablement situées et assez longues pour bien faire coïncider l'axe de rotation avec l'axe optique.

Mettre un objectif à immersion de 2 mm. de distance focale sur le microscope et vérifier que la platine soit de construction assez rigide pour ne pas céder sous la pres-

sion ou la traction causée par la manipulation des divers mécanismes de la platine à chariot et de la sous-platine.

6) *La sous-platine.* — Vérifier, comme pour toutes les autres parties mécaniques du microscope, si le mouvement se fait régulièrement et sans temps perdu, tant pour le mécanisme de mise au point rapide que pour celui de la mise au point lente si le statif en est pourvu.

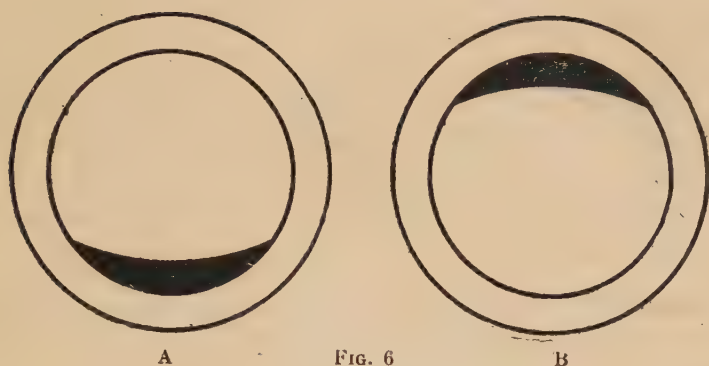
Vérifier aussi avec soin si le mouvement se fait exactement suivant l'axe optique du microscope. Pour cela, obtenir un éclairage absolument axial comme il a été décrit à la page 68, mettre ensuite un objectif de 4 mm. de distance focale sur le microscope et fermer presque complètement le diaphragme iris du condensateur. Oter l'oculaire et, en regardant la lentille postérieure de l'objectif, centrer le condensateur en employant l'ouverture de l'iris suivant la méthode décrite à la page 82. Puis, avec le mécanisme de mise au point de la sous-platine, faire doucement monter et descendre le condensateur d'une extrémité à l'autre de sa course. L'ouverture éclairée de l'iris variera en diamètre, mais il doit toujours rester absolument concentrique à la périphérie de la lentille postérieure de l'objectif. En cas contraire, le mouvement ne se fait pas suivant l'axe optique et l'instrument est à rejeter. En effectuant ce test, s'assurer en même temps si les vis de centrage de la sous-platine sont convenablement placées et si elles sont assez longues pour centrer le condensateur.

7) *Le Miroir.* — La bonne qualité du miroir a plus d'importance qu'on ne le croit généralement, car, si elle donne des images multiples de la source éclairante, les corrections du condensateur sont troublées et la valeur optique de l'image microscopique est considérablement amoindrie. Rechercher ce défaut de la façon suivante : Oter tout l'optique du microscope, y compris le condensateur, mettre le microscope en position verticale et, en regardant à travers le tube du microscope, incliner le mi-

roir de façon à voir une image de la source lumineuse, préférablement une ampoule de 50 bougies de verre opalin. On a préalablement découpé dans un écran de carton une fente de 10 mm. de long sur 3 mm. de large. L'image de cette fente, placée en contact de l'ampoule, est examinée dans le miroir. Si, au lieu d'une seule réflexion, brillante et nette sur les bords, on en voit plusieurs, le miroir est mauvais. On peut parfois remédier à ce défaut en faisant tourner le miroir dans sa monture de métal. En une certaine position, les images multiples se superposeront en une seule. On grave alors un petit trait de repère sur le bord du miroir correspondant à un repère sur la monture et on utilisera toujours le miroir dans la position ainsi notée. Les images multiples sont causées par un manque de parallélisme entre les surfaces supérieures et inférieures du verre du miroir et le grand avantage des miroirs en acier inoxydable est de ne pas présenter ce défaut.

Vérifier si le centre du miroir coïncide exactement avec l'axe optique du microscope. Le test se fait de la manière suivante : Mettre le microscope en position verticale avec le miroir bien horizontal après avoir fait une petite tache d'encre en son centre. Oter tout l'optique du microscope, laisser la monture du condensateur en place (après avoir dévissé sa partie optique), afin de pouvoir employer le diaphragme iris seul. Regarder par le haut du tube et, à l'aide des vis de centrage de la sous-platine, centrer l'ouverture de l'iris, puis fermer ce dernier autant que possible. La tache d'encre sur la surface du miroir doit rester bien au centre de l'ouverture de l'iris.

Si le centre du miroir ne correspond pas à l'axe optique du microscope, et surtout si le diamètre du miroir est trop petit (moins de 50 mm.) de sérieux inconvénients peuvent en résulter quand le microscope est employé en position inclinée. Pour s'en rendre compte, incliner le microscope à 40° environ. Placer sur la platine une préparation quelconque et la mettre au point avec un objec-



tif de 4 mm. de distance focale en ayant soin de bien centrer et mettre au point le condensateur. La meilleure source d'éclairage à employer est une ampoule en verre opalin de 50 bougies. Ouvrir tout grand le diaphragme iris du condensateur, enlever l'oculaire et examiner la lentille postérieure de l'objectif. Si le centre du miroir est mal situé, on verra un des deux aspects de la fig. 6. L'arc obscur représente l'image de la *monture* du miroir. Si l'arc en question se trouve vers le bas de l'image comme en A, le bras de support du miroir est trop court. Il est, au contraire, trop long si l'aspect est semblable à B.

Pour le miroir concave, le seul test à faire est de voir si son rayon de courbure est tel qu'une image de la source éclairante peut être projetée exactement dans le plan de la préparation. Oter tout l'optique du microscope et mettre devant la source lumineuse (ampoule opaline de 50 bougies) un écran de carton dans lequel est découpée une fente d'environ 8 mm. de long sur 2 mm. de large. Placer sur la platine du microscope une lame de verre dépoli (la surface dépolie vers le bas) ou au besoin un morceau de papier à tracer. Voir si l'on peut concentrer à l'aide du miroir une image de la fente sur la lame en question.

Dans tous les tests, la source lumineuse doit être à une distance de 250 mm. du miroir.

II) TESTS POUR L'OPTIQUE.

1) *Objectifs.* — Il est très difficile de porter jugement sur la valeur optique d'un objectif sans une longue pratique du microscope. Le meilleur est de n'acheter que des objectifs neufs et de ne se fier qu'à une maison optique de réputation établie.

2) *Oculaires.* — Le seul test pratique applicable aux oculaires est de s'assurer que le diaphragme intérieur est placé en bonne position. Pour cela, regarder à travers l'oculaire vers une surface blanche bien éclairée. Les bords du champ doivent être absolument nets. Si cela n'est pas ainsi on peut y remédier en dévissant les deux lentilles et en déplaçant le diaphragme (qui se trouve à l'intérieur de la monture) vers le haut ou vers le bas jusqu'à ce que, les lentilles étant remises en place, les bords du champ soient bien définis.

3) *Condensateur.* — Le premier test est de s'assurer avec un compas que le diaphragme iris se ferme bien centralement au condensateur et, qu'étant fermé au maximum, son centre coïncide bien avec l'axe optique.

S'il s'agit d'un condensateur achromatique le degré de sa correction chromatique peut être jugé en le mettant au point et en examinant l'image de la source éclairante (flamme, ampoule opaline), projetée dans le plan de la préparation, à l'aide d'un objectif de 25 mm. de distance focale — si possible apochromatique. Les bords de l'image en question ne doivent pas montrer d'irisations colorées, mais doivent paraître nets et brillants sur un fond presque noir.

On peut aussi juger de la définition de certains condensateurs achromatiques car souvent leur partie optique est munie du pas de vis universel des objectifs. En dévissant la partie optique de la monture, on peut la visser sur le revolver du microscope et s'en servir comme d'un objectif

ordinaire. Les condensateurs achromatiques, étant presque aussi soigneusement corrigés que les objectifs, doivent donner, ainsi employés, une image peu inférieure. Comme ils sont corrigés pour travailler à travers l'épaisseur de la lame, il faut, en faisant ce test, avoir soin de placer la préparation sur la platine avec la lamelle *en bas*.

Pour vérifier l'ouverture numérique d'un condensateur, l'employer de concert avec un objectif d'ouverture numérique identique ou aussi rapprochée que possible. S'il s'agit, par exemple, d'un condensateur achromatique et aplanétique à immersion de 1,30 O. N., procéder comme il suit : Après avoir immergé le condensateur avec de l'huile de cèdre, le centrer et le mettre au point soigneusement sur une préparation quelconque montée au baume de Canada à l'aide d'un objectif de 25 mm. de distance focale (Voir page 81). Eclairage = ampoule opaline de 50 bougies à 250 mm. de distance. Mettre ensuite sur le microscope un objectif à immersion de 2 mm. de distance focale de 1,30 O. N. et, après l'avoir mis au point sur la préparation, déplacer cette dernière afin d'amener dans le champ une région vide. Ouvrir l'iris au maximum, enlever l'oculaire et regarder la lentille postérieure de l'objectif. Il faut que la lentille en question soit entièrement et uniformément remplie de lumière. En employant le même test, un condensateur achromatique à sec devra éclairer entièrement la lentille postérieure d'un objectif à sec de 0,90 ou de 0,95 O. N.

Enfin, en examinant un condensateur à immersion, s'assurer que son foyer ne soit ni trop petit car autrement il est impossible de le mettre au point à travers l'épaisseur de la lame ; ni trop grand car dans ce cas l'huile de cèdre ne conserve pas le contact entre la lame et le condensateur et il est impossible d'employer ce dernier immergé. La distance frontale d'un condensateur à immersion de 1,30 O. N. doit être de 1,6 mm. environ, celle d'un condensateur de 1,40 O. N. de 1,3 mm.

DEUXIÈME PARTIE

Technique de la Manipulation Microscopique

CHAPITRE V

Eclairage par Lumière transmise

Il existe trois méthodes d'éclairer l'objet que l'on désire étudier au microscope :

La première consiste à envoyer la lumière directement dans l'objectif à travers un objet transparent ou semi-transparent, c'est la méthode de *l'éclairage par lumière transmise* avec laquelle l'objet est vu sur un fond clair.

Dans la seconde méthode la lumière est dirigée très obliquement sur l'objet de façon à ce que les rayons directs ne puissent pas entrer dans l'objectif mais seulement les rayons lumineux diffractés par l'objet. Ce dernier apparaît alors comme s'il brillait d'une lumière propre sur un fond noir. Cette méthode est dite de *l'éclairage par lumière diffractée* ou plus communément de *l'éclairage à fond noir*.

La troisième méthode, généralement réservée pour les corps opaques, consiste à les éclairer verticalement d'en haut ou obliquement par le côté de façon à ce qu'ils soient visibles par la lumière qu'ils réfléchissent. C'est la méthode de *l'éclairage par lumière réfléchie*.

Eclairage par lumière transmise. — L'éclairage par lumière transmise est : A) *Axiale*. Quand l'axe du faisceau lumineux qui entre dans l'objectif coïncide avec l'axe optique de ce dernier. C'est l'éclairage *par excellence*, celui qui donne les images les plus nettes et *les plus proches de la réalité*. B) *Oblique*. Quand l'axe du faisceau lumineux qui entre dans l'objectif est incliné sur l'axe optique de ce dernier. Le terme d'éclairage oblique comprend aussi *l'éclairage annulaire* quand les rayons centraux d'un faisceau axiale sont arrêtés par un diaphragme concentrique circulaire qui n'est toutefois pas assez grand pour obtenir un fond noir.

A) ECLAIRAGE AXIALE. — La technique de l'éclairage axiale diffère un peu, suivant qu'il s'agit de grossissements faibles, moyens ou forts, mais elle est toujours basée sur quatre règles fondamentales :

1) On ne doit pas modifier la forme ou les dimensions circulaires de l'objectif.

2) L'objet à examiner doit être illuminé par un cône solide d'éclairage dont l'axe doit coïncider avec celui du microscope afin que l'objectif, vu d'en haut, présente une tache circulaire de lumière au centre de sa lentille postérieure. On ne peut obtenir ce résultat qu'en centrant tout l'optique du microscope.

3) Cette tache de lumière doit être aussi grande que possible en comparaison avec la lentille postérieure. Son diamètre ne doit pas être moindre que les $\frac{2}{3}$ de celui de la lentille postérieure et si possible égal aux $\frac{3}{4}$ ou même plus. En d'autres termes, il faut utiliser le maximum pos-

sible de l'ouverture numérique de l'objectif en se servant du plus grand cône d'éclairage qu'il puisse supporter.

4) Cette tache de lumière doit montrer une surface d'une intensité uniforme. (Instructor-Commander M. A. Ainslie. « Journal of the Photomicrographic Society », Vol. IX, n° 2, juin 1920).

A ces quatre règles on peut en ajouter deux autres qui découlent des premières :

5) Utiliser une source lumineuse propice.

6) Neutraliser les erreurs introduites dans les corrections de l'objectif par des causes diverses dont la principale est l'influence de la lamelle couvre-objet.

Nous commencerons l'exposé de la technique par la description des méthodes à employer avec les plus forts grossissements. La technique pour les grossissements moyens et faibles n'en est qu'une simplification ou une variation.

Pour satisfaire aux quatre règles fondamentales déjà énoncées, il faut suivre un certain nombre d'étapes dans une suite qui sera toujours la même pour n'importe quel objectif. Certaines personnes trouveront peut-être ces procédés longs et d'une exactitude inutilement minutieuse. Il est donc nécessaire d'insister que si l'on néglige le moindre de ces détails on ne peut obtenir *le maximum* de rendement d'un objectif. D'autre part, l'habitude aidant et l'œil et la main devenant plus exercés, les diverses manipulations se feront avec une grande rapidité et dans beaucoup moins de temps qu'il ne faut pour les décrire.

Technique à employer avec les objectifs à immersion homogène.

Source d'éclairage. — Il semblerait d'après l'opinion des micrographes les plus expérimentés que, pour l'observation visuelle du moins, l'éclairage qui fait le mieux ressortir les qualités optiques des objectifs de grande ou-

verture numérique soit fourni par une lampe à pétrole à mèche plate de 13 mm. de largeur et à cheminée entièrement métallique à l'exception d'une fenêtre constituée par une lame de verre ordinaire du format 76 × 26 mm. (1).

Pour cette raison c'est elle que nous avons adoptée comme source lumineuse dans la description qui va suivre. Personnellement, nous avons la meilleure impression de cette source. Nous avons obtenu aussi des résultats excellents avec une ampoule opaline de 50 bougies munie d'un écran de métal noirci percé d'un orifice circulaire de 2 cm. de diamètre en contact avec le verre.

Pour la microphotographie nous préférons la lampe à acétylène à cause de son plus grand éclat intrinsèque. Dans ses points essentiels la technique à suivre est la même avec ces trois sources lumineuses et avec toute autre que l'on pourrait utiliser.

Optique. Objectif. — Apochromate de 2 mm. de distance focale et de 1,40 O. N.

Oculaire. — Compensateur de 25 mm. de distance focale × 10.

Condensateur. — Achromatique et aplanétique à immersion, 1,30 O. N.

Miroir. Plan en acier inoxydable. Le miroir plan est toujours employé avec le condensateur.

Préparation. Milieu de montage. — Dont l'indice de réfraction ne diffère pas trop de celui du verre (1,52).

Lamelle. — Dont l'épaisseur — y comprise celle de la préparation et du milieu de montage — n'est pas supérieure à la distance frontale de l'objectif (0,05 mm.).

Lame. — Dont l'épaisseur est moins de 1,5 mm.

1) *Manipulations préliminaires.* — Le microscope (2) est incliné à un angle commode, le tube à tirage est mis à la

(1) Le plus mauvais éclairant — et pourtant l'un des plus employés — est l'ampoule à filament incandescent *nu*.

(2) Il est compris que le bon fonctionnement du microscope a été soigneusement vérifié d'après les tests énumérés aux pages 64-75.

longueur pour laquelle l'objectif est corrigé (il faut vérifier une fois pour toutes si les divisions gravées sur le tube à tirage correspondent à la longueur avec ou sans revolver et tenir compte de la différence s'il en existe) et l'objectif de 2 mm. est vissé sur le revolver ainsi qu'un objectif achromatique ordinaire de 25 mm. de distance focale.

La lampe est réglée de façon à ce que la hauteur de la flamme soit à peu près sur le même niveau que le miroir et que son *profil* soit tourné vers ce dernier. Elle doit être placée à 250 mm. du miroir (1), distance pour laquelle la grande majorité des condensateurs sont corrigés, et juste au devant du microscope.

La préparation est mise en position sur la platine après qu'une goutte d'huile de cèdre aie été déposée au centre de la surface inférieure de la lame et sur la lentille supérieure du condensateur. Il ne faut pas craindre de mettre une quantité suffisante d'huile pour que le contact soit maintenu entre le condensateur et la lame après que l'huile ait été étendue sur une grande partie de la surface inférieure de cette dernière lorsqu'on la déplace pour l'explorer.

Relever lentement le condensateur jusqu'à ce que les deux gouttes d'huile se fondent en une seule tout en ayant soin de ne pas y faire entrer des bulles d'air.

II) *Mise au point et centrage préparatoire de l'optique.* — Les opérations préparatoires se font avec l'objectif de 25 mm. de distance focale.

1) *Mise au point de l'objectif.* — L'objectif de 25 mm. est soigneusement mis au point sur la préparation. La région à étudier est amenée au centre du champ afin de la retrouver plus facilement quand l'objectif ci-dessus est remplacé par l'objectif à immersion.

(1) La source lumineuse doit être placée plus exactement à 250 mm. de la lentille inférieure du condensateur. Il faut donc, en mesurant la distance de la lampe au miroir, retrancher la distance entre ce dernier et la lentille en question.

2) *Mise au point du condensateur.* — Le condensateur est élevé ou abaissé très doucement à l'aide du mécanisme de mise au point de la sous-platine jusqu'à ce que l'image de la flamme soit nettement visible en même temps que l'image de la préparation. En inclinant convenablement le miroir on amène ensuite l'image de la flamme dans le centre exact du champ.

Si l'on se sert d'une ampoule opaline qui montre une grande surface uniformément éclairée remplissant tout le champ, il est difficile de mettre au point ses régions centrales. Pour cela, on incline d'abord le miroir de façon à amener dans le champ un des bords de l'ampoule et, après avoir effectué la mise au point sur ce bord, on remet le centre de l'image de l'ampoule dans le centre du champ, afin que l'éclairage de ce dernier soit uniforme. Si l'on a placé devant l'ampoule un écran percé d'un orifice circulaire, la mise au point se fait sur les bords de l'orifice en question.

Au moment de mettre au point l'image de la flamme (ou de toute autre source lumineuse), il peut arriver que l'on voit une ombre traverser rapidement le champ. Aussitôt après, ce dernier devient moins brillant et l'image de la flamme semble avoir brusquement changé d'aspect. Cela indique que l'huile de cèdre a rompu le contact entre la lentille supérieure du condensateur et la préparation, la lame étant trop mince. Pour y remédier, il faut placer une lamelle couvre-objet sous la lame pour augmenter son épaisseur, en ayant soin de les unir avec une goutte d'huile de cèdre. Si le même phénomène se reproduit, ajouter une autre lamelle.

Il peut arriver aussi que l'on ne puisse pas mettre au point l'image de la flamme sans que la lentille supérieure du condensateur butte contre la préparation. Cela démontre que la lame est trop épaisse. Il n'y a malheureusement pas de remède à cet état des choses, mais si l'écart est minime on parvient parfois à allonger suffisamment

le foyer du condensateur en rapprochant la lampe du microscope. L'inconvénient de cette manœuvre est de réduire l'ouverture numérique du condensateur et de troubler ses corrections.

3) *Centrage du condensateur.* — On ferme presque complètement le diaphragme iris, puis on retire l'oculaire et on examine la lentille postérieure de l'objectif. Cette dernière présentera l'aspect d'un disque très sombre montrant plus ou moins centralement un petit cercle brillant qui est l'ouverture de l'iris. Avec les vis de centrage de la sous-platine, on amène ce cercle exactement au centre de la lentille postérieure. Comme il est parfois assez difficile de juger quand le cercle est exactement centré, un moyen plus simple est d'ouvrir un peu l'iris et de voir si ses feuillets viennent se placer symétriquement au pourtour de la lentille postérieure. Le condensateur a été maintenant centré sur l'axe optique de l'objectif de 25 mm. Comme on le verra plus loin, il sera nécessaire de modifier quelque peu ce centrage quand on changera d'objectif (1).

Au lieu d'enlever l'oculaire chaque fois que l'on désire examiner la lentille postérieure de l'objectif (ce qui a l'inconvénient de permettre aux poussières de tomber dans le tube du microscope), il est mieux d'agrandir le cercle de Ramsden au moyen d'une loupe de faible distance focale ($\times 10$ environ) ou d'un oculaire ordinaire d'Huyghens ($\times 10$) retourné, c'est-à-dire tenu au-dessus de l'oculaire qui est sur le microscope de façon à ce que leurs deux lentilles supérieures se regardent.

III) *Mise au point et centrage final de l'optique.*

1) *Mise au point de l'objectif.* — On remplace l'objectif de

(1) Si, après avoir remis l'oculaire, on trouve que l'image de la flamme n'est plus exactement au centre du champ, on l'y ramène par un léger déplacement du miroir.

25 mm. par celui de 2 mm. de distance focale (1). On dépose une goutte d'huile de cèdre sur la lamelle couvre-objet, une autre sur la lentille frontale de l'objectif et on abaisse ce dernier avec le mécanisme de la mise au point rapide jusqu'à ce que le contact se fasse entre les deux gouttes. Il faut avoir soin à ce qu'aucune bulle d'air ne se forme entre la lentille frontale et la lamelle. Si une bulle d'air est enfermée entre la lentille frontale et la lamelle couvre-objet, le champ — l'objectif étant mis au point — montrera des traînées obscures et l'objet semblera sombre et mal défini. En examinant la lentille postérieure de l'objectif, la ou les bulles d'air peuvent être facilement aperçues. On peut dépister de la même façon une bulle d'air entre le condensateur et la lame. Pour reconnaître si la bulle d'air ainsi découverte se trouve entre la lentille frontale et la lamelle ou entre la lame et la lentille supérieure du condensateur, il suffit de relever très lentement l'objectif à l'aide du mouvement lent. Si la bulle se trouve entre le condensateur et la lame, on n'aperçoit aucune modification de sa position ou de ses dimensions. Si, au contraire, la bulle est située entre la lamelle et l'objectif, elle paraît augmenter de grosseur et se déplacer vers la périphérie de la lentille postérieure. Le micrographe doit se familiariser avec tous les aspects de la lentille postérieure de l'objectif, car il peut en tirer un grand nombre d'indications des plus importantes.

Il existe deux méthodes pour mettre au point l'objectif à immersion sur la préparation. On peut, en regardant la manœuvre par le côté, abaisser délicatement l'objectif au moyen du mouvement rapide jusqu'à ce que la lentille frontale soit presque en contact avec la lamelle.

(1) Avant de tourner le révoluer il faut, surtout en travaillant avec les objectifs puissants à petite distance focale, avoir soin de relever un peu le tube du microscope de peur que l'objectif le plus long ne vienne heurter la préparation. Il faut faire de même chaque fois que l'on change de préparation pour ne pas rayer la frontale de l'objectif si la seconde préparation est plus épaisse que la première.

Avec l'œil à l'oculaire, on remonte ensuite très doucement l'objectif à l'aide du même mouvement rapide jusqu'à ce que l'objet apparaisse vaguement, puis on termine la mise au point avec le mouvement lent.

L'autre méthode demande un peu d'habitude. Lorsque le premier contact se fait entre la goutte d'huile qui est sur la lamelle et celle qui est sur la lentille frontale, on sait que cette dernière est encore *en dehors* de son foyer. On n'a donc qu'à abaisser très doucement l'objectif avec le mouvement de mise au point rapide jusqu'à ce que l'objet apparaisse et parfaire la mise au point avec le mouvement lent.

Cette méthode est la plus rapide, mais il ne faut l'employer que quand la nature de la préparation est telle que l'on est certain de ne pas tomber sur une région vide, autrement on s'expose à heurter la lentille frontale contre la lamelle couvre-objet. Si l'on n'a pas la main très légère, s'il s'agit d'un objectif à très courte distance frontale (comme, par exemple, celui de 2 mm. de distance focale, 1,40 O. N., dont la distance frontale n'est que de 0,05 mm.) ou d'une préparation à lamelle épaisse, il est plus prudent d'abaisser l'objectif à l'aide du *mouvement lent* après le contact des deux gouttes d'huile.

A moins de se servir des changeurs d'objectifs Zeiss avec lesquels les axes optiques de tous les objectifs sont réglés afin de coïncider l'un avec l'autre, il est parfois difficile de retrouver avec l'objectif de 2 mm. l'objet qui a été repéré avec celui de 25 mm. Dans ce cas, la méthode suivante rend parfois des services : L'immersion est abaissée jusqu'à être approximativement un peu en deçà de son foyer, l'oculaire est enlevé et on examine la lentille postérieure de l'objectif. Si l'objet recherché n'est pas de dimensions trop exigües (0,15 mm. de largeur environ au minimum), son image agrandie peut être aperçue dans la lentille postérieure ou peut y être amenée en déplaçant un peu la préparation à l'aide de la platine à

chariot. On amène alors cet objet exactement au centre de la lentille postérieure et, l'oculaire étant replacé et la mise au point faite, il sera retrouvé dans le champ.

2) *Mise au point du condensateur.* — Toute la raison d'être de la mise au point du condensateur est de remplir autant que possible de lumière la lentille postérieure de l'objectif et d'utiliser ainsi le maximum de son ouverture numérique. Un condensateur qui ne projette pas l'image de la source lumineuse exactement dans le plan de la préparation n'éclaire pas toute la surface de la lentille postérieure, comme on peut se rendre compte par l'essai. Il n'existe toutefois aucune source lumineuse qui ne comprenne qu'un seul plan ; ceci confère un peu de latitude à la mise au point. Lorsqu'il s'agit en effet d'une flamme comme celle de la lampe à pétrole par exemple, cette mise au point peut se faire sur le plan le plus postérieur, sur le plan moyen ou sur le plan antérieur de la flamme. Il est nécessaire seulement d'utiliser celui qui éclaire le mieux la lentille postérieure de l'objectif. Pour cela, l'iris du condensateur étant grand ouvert, on enlève l'oculaire et on regarde la lentille postérieure. Comme le condensateur a été amené très près de sa position finale avec l'objectif de 25 mm., la lentille postérieure montrera l'aspect reproduit en A de la fig. 7, où on voit une image élargie de la flamme bordée de chaque côté par un arc sombre (1). En remontant alors très doucement le condensateur (par le mouvement lent de la sous-platine, si le statif en est muni), l'image de la flamme s'élargit, mais à un certain moment, au lieu de paraître uniforme, elle est barrée de deux taches sombres allongées comme en C. La dernière position du condensateur avant l'apparition de ces taches, celle où la lentille postérieure est uniformément éclairée comme en B, est la position op-

(1) L'examen de la lentille postérieure est plus précis si l'on déplace un peu la préparation sur la platine afin d'amener dans le champ une région aussi vide que possible.

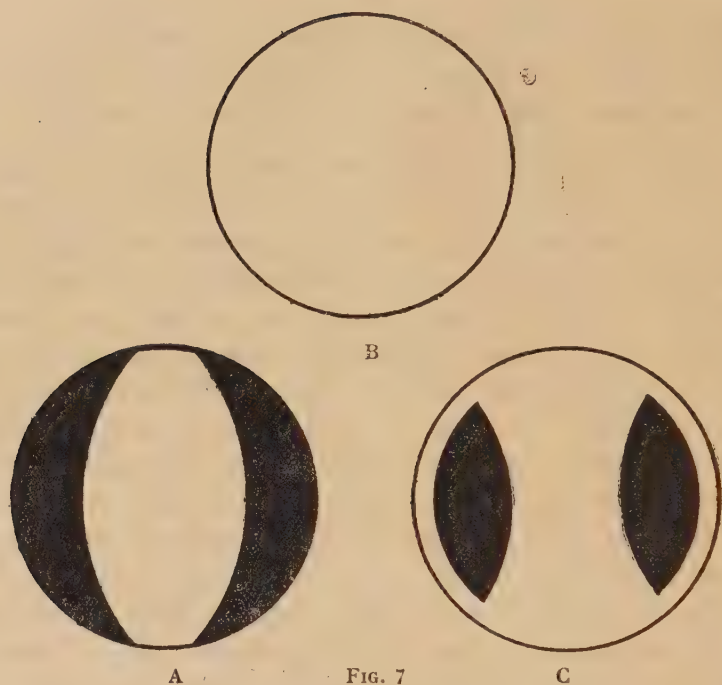


FIG. 7

tima pour obtenir le maximum de rendement de l'objectif.

Si l'on se sert d'oculaires faibles, il est probable que les bords du champ ne soient pas aussi éclairés que le centre à cause de la forme allongée de l'image de la flamme. Cela n'a pas d'inconvénient pour l'observation visuelle où le centre du champ est surtout utilisé et il faut bien se garder de modifier la position du condensateur sous peine de diminuer l'efficacité de l'objectif. Dans la microphotographie où un champ uniformément éclairé est de prime importance, d'autres techniques sont suivies qui sont exposées à la page 145.

3) *Centrage du condensateur.* — Le condensateur a été déjà centré avec l'objectif de 25 mm., mais comme les axes optiques de deux objectifs ne coïncident que très rarement, il faut le recentrer avec l'objectif de 2 mm. Pour cela on procède exactement comme pour l'objectif

de 25 mm. en observant l'aspect de la lentille postérieure (1).

4) *Réglage de cône éclairant.* — Il s'agit maintenant de régler la quantité de lumière qui doit entrer dans l'objectif. Pour cela l'aspect de la lentille postérieure de l'objectif est de nouveau consulté. La grande majorité des objectifs ne peuvent supporter un cône éclairant de plus des $3/4$ de leur ouverture numérique (Voir fig. 8). On ferme l'iris du condensateur jusqu'à ce qu'une zone de la périphérie de la lentille postérieure équivalent à $1/4$ de sa surface totale soit recouvert par les feuillets de l'iris. Il faudrait de longs

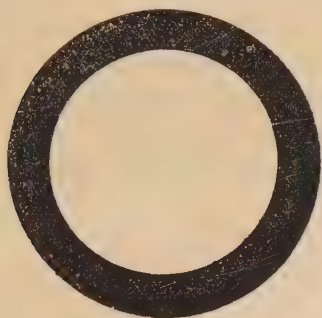


FIG. 8



FIG. 9

et patients essais avant de pouvoir conclure que l'objectif est une des exceptions qui peuvent avec profit en utiliser plus. La dernière petite retouche au réglage sera donnée d'après l'aspect de l'image microscopique après avoir remplacé l'oculaire. Certains objets (préparations fortement colorées, etc.) peuvent supporter de plus grands cônes que d'autres. Il faut donc, l'œil au microscope, ouvrir ou fermer l'iris d'une très petite quantité jusqu'à obtenir le meilleur effet. Toutefois, il faut bien se garder de trop s'éloigner du cône des $3/4$ et surtout de *ne pas trop fer-*

(1) Après le centrage final du condensateur il peut arriver que la lentille postérieure de l'objectif, au lieu d'être entièrement éclairée comme elle l'était après sa mise au point, montre d'un côté une espace sombre comme dans la figure 9. Dans ce cas, il faut modifier légèrement l'inclinaison du miroir jusqu'à ce que la lentille postérieure soit de nouveau uniformément éclairée.

mer l'iris. La fermeture de l'iris produit une augmentation de contraste dans certains détails, mais c'est au prix de la valeur optique de l'image. Non seulement les structures les plus délicates disparaissent complètement, mais des effets de diffraction sont produits qui altèrent l'aspect des détails qui persistent encore et créent des apparences qui n'ont guère de parenté avec la réalité.

L'éclairage décrit ci-dessus où l'objet à étudier est situé au sommet d'un cône lumineux qui éclaire uniformément les $3/4$ au moins de la lentille postérieure de l'objectif est connu sous le nom d'*éclairage critique*, terme proposé par M. E. M. Nelson.

L'image de l'objet fournie sous éclairage critique par un objectif de bonne qualité soigneusement corrigé pour l'épaisseur de la lamelle couvre-objet (voir réglage pour rétablir la correction sphérique de l'optique) s'appelle *une image critique*. Le but de la technique microscopique est d'obtenir cette image critique.

5) *Réglage pour rétablir la correction sphérique de l'optique.*

a) *Objectif.* — Les objectifs à immersion homogène étant reliés à la lamelle par un milieu possédant le même indice de réfraction, il est généralement accepté qu'ils sont insensibles à l'influence de l'épaisseur de la lamelle couvre-objet. Nous ne partageons pas intégralement cet opinion car nous avons parfois trouvé que l'image microscopique a été sensiblement améliorée par une légère modification de la longueur mécanique du tube. Naturellement avec des préparations à sec ou montées dans un milieu à indice de réfraction différent de celui du verre (eau, sérum, glycérine, etc.), la nécessité du réglage recouvre tous ses droits et doit être effectué soigneusement si l'on veut obtenir une image parfaite. Comme le rétablissement de la correction sphérique n'est pas d'une nécessité aussi impérieuse qu'avec les objectifs à sec ou à

immersion à eau, cette question ne sera traitée à fond que plus loin. (Voir page 91). Il suffit, dans la majorité des cas, d'utiliser les objectifs à immersion homogène avec la longueur du tube mécanique pour laquelle ils ont été corrigés. Il faut toutefois signaler ici qu'il est important de vérifier cette longueur *soi-même* (sur une préparation montée au baume de Canada) car elle ne correspond pas toujours à celle indiquée dans le catalogue du fabricant. Nous avons rencontré des objectifs — soi-disant corrigés pour une longueur de 160 mm. — qui l'étaient en réalité pour une dizaine de mm. de plus ou de moins.

Enfin, nous mentionnerons, en passant, que les objectifs à immersion peuvent être utilisés sans lamelle couvre-objet quand la nature de la préparation le permet, sans détérioration sensible de l'image.

b) *Condensateur*. — Les condensateurs à immersion n'ont besoin d'aucun réglage pour les épaisseurs de lame variées. Il faut seulement que l'épaisseur en question soit comprise entre les limites citées à la page 53.

6) *Réglage de l'intensité de l'éclairage. Ecrans colorés*. — Si les manipulations qui ont été décrites jusqu'ici ont été exécutées de tous points, l'image fournie par le microscope est la meilleure qu'il est possible d'obtenir. Il se peut toutefois que la luminosité du champ soit assez intense pour devenir fatigant à l'œil lors d'une observation prolongée. S'il en est ainsi, on doit la modérer, non en fermant l'iris du condensateur, mais en plaçant dans le porte-diaphragme un disque de verre de teinte neutre ou bleu-verdâtre. Les écrans Wratten sont excellents pour cet usage ; un des meilleurs est le n° 44 dont la couleur bleu-verdâtre est très soulageante à la vue. Pour les travaux les plus délicats, ces écrans doivent être en verre optique à faces parallèles afin de ne pas produire des images multiples de la source lumineuse.

Pour l'observation visuelle au moins, il est rare que l'éclairage ne soit pas assez intense. Quand il est insuffisant, cela provient, dans la grande majorité des cas, d'une faute de technique ou d'un mauvais contact de l'huile entre le condensateur et la lame ou entre la lamelle et la frontale de l'objectif.

Il est préférable de ne pas essayer d'augmenter l'intensité de l'éclairage au moyen d'une loupe collectrice, car toute lentille interposée entre la source lumineuse et le condensateur trouble les corrections de ce dernier. Le collecteur doit être réservé uniquement pour la microphotographie, où un champ uniformément éclairé doit être obtenu même au prix d'un sacrifice de la définition, et pour le travail avec les condensateurs à fond noir où une lumière intense est de première nécessité.

Objectif à immersion homogène (de 2 mm. de distance frontale, 1,30 à 1,40 O. N.) et condensateur achromatique à sec (0,90 à 1,00 O. N.).

La technique est absolument la même que celle qui a été déjà décrite. La seule différence consiste dans le réglage du cône éclairant et dans le réglage pour rétablir la ~~correction~~ sphérique de l'optique.

4) *Réglage du cône éclairant.* — Comme l'ouverture numérique maximum d'un condensateur à sec est de 1,0, tandis que celle de l'objectif à immersion homogène est de 1,30 à 1,40, il s'ensuit qu'il faut utiliser le plus grand cône du condensateur et fermer l'iris aussi peu que possible. Pour cela, en regardant la lentille postérieure de l'objectif après avoir enlevé l'oculaire, on cesse de fermer l'iris aussitôt que ses feuillets apparaissent à la périphérie de la lentille en question (Quant il s'agit d'un objectif à immersion à eau l'iris est fermé d'une fraction de plus).

5) *Réglage pour rétablir la correction sphérique de l'optique.*

a) *Objectif*. — Mêmes observations qu'à la page 88.

b) *Condensateur*. — Le condensateur n'étant pas uni à la lame par de l'huile de cèdre, il faut faire la correction imposée par l'épaisseur de la lame et du milieu de montage interposé entre cette dernière et la préparation. Si cette correction n'est pas effectuée l'image en souffre. Les résultats fâcheux se font surtout ressentir en microphotographie par un manque de contraste et de netteté des clichés. Le procédé pour exécuter les corrections nécessaires est exposé à la page 100.

Technique à employer avec les objectifs à immersion à eau.

Objectif à immersion à eau (2,5 à 2 mm. de distance focale 1,10 à 1,25 O. N.) et condensateur achromatique à sec (0,90 à 1,00 O. N.). — L'ouverture numérique des objectifs à immersion à eau ne dépasse par 1,25, même pour les apochromates. Il est donc inutile, pour la plupart du temps d'employer avec eux un condensateur à immersion car l'on sacrifierait ainsi la plus grande qualité des immersions à eau, leur simplicité. En tout cas, avec n'importe quel condensateur, la technique est identique à celle qui a été déjà exposée sauf en ce qui concerne le paragraphe 5.

5) *Réglage pour rétablir la correction sphérique de l'optique.*

a) *Objectif*. — Avec les objectifs à immersion à eau il existe entre la lamelle couvre-objet et la lentille frontale un milieu ayant un indice de réfraction (1,33) très différent de celui du verre (1,54). Le système cesse donc de former un tout homogène et les corrections de l'objectif pour l'aberration de sphéricité sont dérangées s'il n'est pas utilisé avec une lamelle de l'épaisseur exacte pour laquelle il a été corrigé. Or, il est facile de voir qu'il est im-

possible que la lamelle d'une préparation ait toujours juste l'épaisseur nécessaire car il faut aussi prendre en considération l'épaisseur du milieu dans lequel l'objet a été monté et même celle de cet objet lui-même. En effet, comme il sera exposé plus loin, si un spécimen a beaucoup de profondeur il faut changer la correction chaque fois que l'on examine des régions situées dans des plans différents.

Le réglage pour rétablir la correction sphérique de l'objectif est de la plus haute importance lorsque l'on travaille avec les objectifs à sec ou à immersion à eau, car si elle n'a pas été effectuée avec soin il est impossible d'obtenir la meilleure définition et de voir les plus fins détails de l'objet qui, dans les cas extrêmes, semble même estompé par une voile laiteuse. L'œil s'exerce rapidement à reconnaître l'image donnée par un objectif bien corrigé, et celle fournie par un objectif qui ne l'est pas, lui paraît aussi choquante qu'une image qui n'est pas au point.

Afin d'effectuer ces corrections, les objectifs à immersion à eau sont tous pourvus de montures à correction (voir page 41) mais avant de décrire la méthode de s'en servir nous expliquerons schématiquement les phénomènes sur lesquels elle est basée.

En A de la figure 10 est représenté un objectif qui travaille à travers une lamelle de l'épaisseur pour laquelle il est corrigé. Ses régions centrales et périphériques sont toutes deux au point sur l'objet. Si l'on déplace l'objectif vers le haut et vers le bas de façon à transporter son foyer d'une distance égale de part et d'autre de l'objet en faisant coïncider avec le plan de ce dernier d'abord le plan « c » et puis le plan « b », les mêmes apparences seront observées dans les deux cas. En effet, pour les deux déplacements du foyer, l'image de l'objet (supposé punctiforme) se dissout en un disque estompé plus sombre à la périphérie. En B de la même figure on voit l'effet d'une lamelle trop mince. La correction de l'aberration sphérique

est troublée, l'objectif est devenu sous-corrigé et quand ses régions centrales sont au point sur l'objet, ses régions marginales ont leur foyer trop près de la lentille frontale. Si l'on remonte l'objectif pour faire coïncider le plan « c » avec le plan « d », l'image se dissout aussitôt en un disque nébuleux *plus sombre vers le centre*. Si, au con-

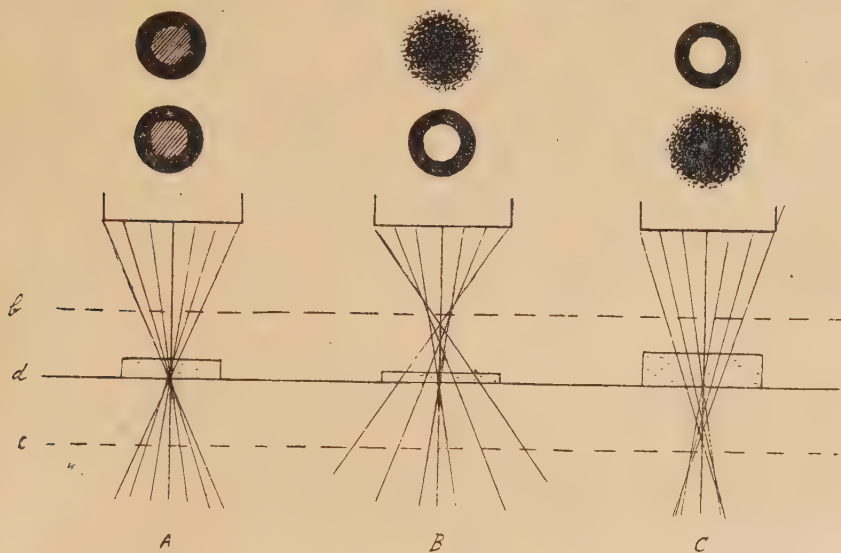


FIG. 10

traire, on abaisse l'objectif pour amener le plan « b » sur le plan « d », l'objet aura passé par les plans focaux de divers zones marginaux de l'objectif et son image aura l'aspect *d'un anneau sombre et net* qui deviendra plus grand et plus flou à mesure que la lentille frontale s'approche de l'objet. En C est représenté un objectif sur-corrigé par une lamelle trop épaisse ; quand ses régions centrales sont au point sur l'objet, le foyer de ses zones périphériques est trop éloigné. En remontant et en abaissant l'objectif les apparences seront juste le contraire de ce qu'elles étaient pour l'objectif sous-corrigé. En abaissant l'objectif on aperçoit un disque nébuleux *plus sombre vers le centre* et en remontant un anneau sombre et net.

Si l'on examine de la même façon un point blanc lumineux sur un fond sombre (par exemple en travaillant avec un condensateur à fond noir) les apparences seront identiques avec la seule différence qu'au lieu d'un disque sombre on verra un disque clair et qu'au lieu d'un anneau foncé un anneau brillant.

Le résumé de tout ce qui a été exposé dans les paragraphes ci-dessus peut être condensé dans le tableau suivant :

Objectif bien corrigé. — Mêmes apparences, disque grisâtre estompé plus sombre à la périphérie (ou disque laiteux estompé plus clair à la périphérie) de part et d'autre de la position de mise au point exacte. Ces apparences ont l'aspect d'un anneau, mais moins marqué que dans les cas qui suivent.

Objectif sous-corrigé. — Anneau sombre et net (ou anneau brillant et net) quand l'objectif est au delà ; disque grisâtre nébuleux plus sombre au centre (ou disque laiteux nébuleux plus clair au centre) quand il est en deçà de sa position de mise au point exacte.

Objectif sur-corrigé. — Disque grisâtre nébuleux plus sombre au centre (ou disque laiteux nébuleux plus clair au centre) quand l'objectif est au delà ; anneau sombre et net (ou anneau brillant et net) quand il est en deçà de sa position de mise au point exacte.

Emploi de la monture à correction. — D'après les apparences indiquées dans le tableau ci-dessus, on a un moyen sûr de connaître le degré de correction de l'objectif. Or, comme un objectif *sous-corrigé* est le signe d'une lamelle *trop mince*, il est clair qu'en pareil cas il faut tourner la bague de la monture à correction dans le sens des aiguilles d'une montre afin d'amener devant le repère fixe les nombres indiquant des épaisseurs décroissantes. Un objectif *sur-corrigé*, preuve d'une famille *trop épaisse*, demande au contraire une rotation en sens opposé pour amener les grands nombres en face du repère.

En pratique, les divisions de la monture à correction ne servent à rien et il n'est pas besoin non plus de se souvenir si les apparences observées proviennent d'une sur ou d'une sous-correction, car il existe un procédé des plus simples grâce auquel l'image optima peut être rapidement obtenue. C'est ce procédé — pour ainsi dire automatique — que nous allons maintenant exposer en détail.

En premier lieu il faut, afin d'exercer l'œil, mettre sur la platine une préparation qui soit propice à montrer avec le maximum de netteté les apparences caractéristiques. Celle qui, à notre avis, remplit le mieux ces conditions, s'obtient tout simplement en tenant une lame au-dessus de la flamme d'une bougie jusqu'à ce qu'elle soit recouverte de noir de fumée. Une parcelle de cette suie est mélangée à une goutte de xylol et montée au baume de Canada. Dans une telle préparation il est facile de trouver un grain de charbon dont les dimensions conviennent au grossissement employé. Dans le cas présent, on met au centre du champ un grain qui soit aussi petit que possible tout en étant nettement visible.

Le tube à tirage est réglé à la division correspondant à la longueur pour laquelle l'objectif est corrigé et l'on utilise un oculaire (compensateur) $\times 10$. L'objectif est soigneusement mis au point sur l'objet et ensuite avec le mouvement lent on examine son aspect en deçà et au delà du foyer. Si l'on voit des deux côtés la même apparence d'un disque grisâtre plus sombre à la périphérie (fig. 10, A) la correction est juste et il ne faut rien modifier. Si, au contraire, comme il est plus probable, on observe d'un côté un disque grisâtre nébuleux plus sombre au centre et de l'autre un anneau sombre et net (fig. 10 B) alors, *sans s'occuper de quel côté du foyer les apparences en question ont été aperçues*, on exécute la manœuvre suivante : Sans quitter de l'œil l'oculaire, on abaisse ou on remonte l'objectif à l'aide du mouvement lent jusqu'à ce que l'anneau sombre et net devienne visible. Ensuite, *sans toucher au*

mécanisme de mise au point, on remet l'image au point en faisant tourner dans un sens ou dans l'autre la bague de la monture à correction. L'objet étant de nouveau au point on vérifie avec le mouvement lent si les apparences ne sont pas maintenant identiques de part et d'autre du foyer. Si cela n'est pas encore, on déplace l'objectif avec le mouvement lent jusqu'à revoir l'apparence annulaire et de nouveau on rétablit la mise au point avec la monture à correction. Après avoir répété cette manœuvre autant de fois qu'il est nécessaire, on arrive enfin à obtenir les mêmes apparences (disque nébuleux plus sombre à la périphérie) des deux côtés du foyer, preuve qu'une correction parfaite a été atteinte.

Le but de toutes ces opérations a été de trouver la distance frontale propice qui rétablit la correction sphérique troublée par l'épaisseur de la lamelle. Cette distance étant trouvée, il ne faut plus, sous aucun prétexte la modifier. En d'autres termes, si l'on a à faire des changements sensibles de la mise au point, soit pour observer les différents plans d'une préparation épaisse, soit parce que l'on a changé d'oculaire, il faut s'abstenir de les exécuter à l'aide des mécanismes de mise au point sous peine de fausser de nouveau la correction sphérique. La mise au point doit être refaite *en faisant tourner la bague de la monture à correction.*

Le réglage pour rétablir la correction sphérique doit être toujours effectué quand on étudie n'importe quelle préparation. Il a une influence énorme sur la visibilité des plus fins détails et la mise au point ne peut être considérée comme parfaite s'il n'a pas été exécuté. Pour faire le réglage on choisit n'importe quel objet punctiforme (grain de poussière, noyau de cellule, etc.) qui soit dans *le même plan* que le détail à étudier. On peut de même choisir un objet filiforme. Dans ce cas, si l'objectif est sous-correcté, il prend l'apparence de deux traits parallèles som-

bres et nets au-delà et d'une bande nébuleuse plus foncée au centre, en deçà de la mise au point exacte.

L'inverse est observé quand l'objectif est sur-corrigé, et si la correction de ce dernier est parfaite on voit de part et d'autre du foyer une bande grisâtre estompée plus sombre sur les bords.

Technique à employer avec les objectifs à sec.

Objectif à sec de moyenne puissance de 4 mm. de distance focale, achromatique ou apochromatique. Condensateur achromatique à sec. — Comme l'ouverture numérique des objectifs à sec ne peut théoriquement dépasser 1,0 et en pratique n'est jamais supérieure à 0,95, même pour les apochromates, il s'ensuit qu'un condensateur achromatique à sec est suffisant pour leur fournir le plus grand cône d'éclairage qu'ils sont capables d'utiliser. On peut toutefois, si on le préfère, se servir d'un condensateur à immersion uni à la lame par de l'huile de cèdre pour parer à la nécessité de corriger le condensateur pour les différentes épaisseurs de lame. Pour cette raison son emploi est très commode en microphotographie, d'autant plus que le condensateur à immersion supprime les réflexions sur la surface inférieure de la lame et fournit ainsi une plus grande quantité de lumière.

On peut aussi — pour ne pas être obligé d'avoir deux condensateurs différents — faire usage de ce même condensateur à sec. La petite perte en efficacité, due à ce que la formule du condensateur à immersion a été calculée pour qu'il soit utilisé immergé, n'est pas assez importante pour être vraiment sensible avec les objectifs à sec. Ce qui est plus nécessaire, si l'on veut obtenir les meilleurs résultats, est de ne pas omettre de faire la correction pour l'épaisseur de la lame chaque fois que l'on se sert d'un condensateur à sec. Cette correction a une influence non seulement sur la finesse de l'image mais aussi sur sa luminosité et peut considérablement améliorer le contraste dans la microphotographie.

Dans l'exposé qui va suivre de la technique à employer les accessoires sont ainsi composés :

Optique. Objectif. — Semi-apochromatique de 4 mm. de distance focale, 0,80 O. N.

Oculaire. — Compensateur de 25 mm. de distance focale $\times 10$.

Condensateur. — Achromatique et aplanétique à sec de 0,95 O. N.

Miroir. — Plan en acier inoxydable.

Source d'éclairage. — Lampe à pétrole à mèche plate de 13 mm. de largeur. Flamme vue de profil et placée à 250 mm. de la lentille inférieure du condensateur.

On peut obtenir des résultats à peu près identiques et d'une manière plus commode avec une ampoule opaline de 50 bougies munie d'un écran métallique percé d'un orifice circulaire de 2 cm. de diamètre en contact avec le verre.

Technique. — Jusqu'à la manipulation n° 4, les opérations sont identiques à ce qui a été déjà décrit excepté, naturellement, que l'objectif et le condensateur ne sont pas immergés. La mise au point de l'objectif est aussi beaucoup plus facile et n'a pas besoin d'une description spéciale.

4) *Réglage du cône éclairant.* — Enlever l'oculaire, observer la lentille postérieure de l'objectif et fermer le diaphragme iris du condensateur jusqu'à ce que le $1/4$ de la surface totale de la lentille postérieure soit recouvert. Remettre ensuite l'oculaire et parfaire le réglage en ayant soin de ne pas trop s'éloigner de la limite ci-dessus, surtout en ce qui concerne la fermeture de l'iris.

5) *Réglage pour rétablir la correction sphérique de l'optique.*

a) *Objectif.* — A part les apochromates, la plupart des objectifs à sec ne sont pas munis de montures à correc-

tion. Il faut donc effectuer le réglage pour le rétablissement de la correction sphérique au moyen du tube à tirage du microscope. On rallonge ce dernier quand la lamelle est trop mince et on le raccourcit pour une lamelle trop épaisse. C'est pour exécuter ces variations de longueur qu'un tube à tirage mù par pignon et crémaillère peut rendre de très grands services. Dans le paragraphe qui suit, nous décrivons la méthode « automatique » d'après laquelle il n'est pas nécessaire de chercher à reconnaître si la lamelle est trop mince ou trop épaisse et si l'objectif est sur ou sous-corrigé.

A l'aide du mouvement lent, l'objectif est abaissé et relevé et l'image d'un détail propice est examinée de part et d'autre du foyer. Si les apparences sont identiques, la correction est juste. Si cela n'est pas le cas, on déplace l'objectif à l'aide du mouvement lent jusqu'à ce que l'apparence de l'anneau sombre et net soit bien visible. On rétablit ensuite la mise au point précise en rallongeant ou en enfonçant le tube à tirage. Cette manœuvre est répétée autant de fois qu'il est nécessaire pour obtenir la correction parfaite, c'est-à-dire jusqu'à ce que les mêmes apparences (disque nébuleux plus sombre à la périphérie) soient visibles des deux côtés du foyer.

Comme pour le réglage au moyen de la monture à correction, le but de ce travail est de trouver la distance frontale optima car on aura remarqué que cette dernière diminue si le tube est allongé et qu'elle augmente au contraire quand la table est enfoncée. Pour cette raison il ne faut plus la modifier quand elle a été obtenue. Si l'on a à faire des changements sensibles de mise au point pour étudier les différents plans d'une préparation épaisse ou parce que l'on a remplacé l'oculaire par un autre, il faut les effectuer à l'aide du tube à tirage. Ici encore le tube à tirage à mouvement mécanique est d'une très grande commodité.

b) *Condensateur*. — La grande majorité des condensateurs à sec sont corrigés pour une épaisseur de lame de 1,5 mm. dans laquelle il faut naturellement comprendre l'épaisseur du milieu de montage interposé entre la lame et l'objet à examiner. Pour obtenir les meilleurs résultats il faut donc corriger le condensateur pour toute variation de l'épaisseur en question. Le procédé est le suivant :

Dans la mise au point préparatoire du condensateur (manipulation n° 2, page 81) effectuée avec l'objectif de 25 mm. de distance focale il faut, aussitôt que le condensateur a été mis exactement au point de manière à projeter une image de la source lumineuse dans le plan de la préparation, rechercher si l'épaisseur de la lame est celle qui convient le mieux.

Pour cela remonter et abaisser très doucement l'objectif à l'aide du mouvement rapide et observer attentivement l'image de la flamme (ou de l'ouverture de l'écran métallique s'il s'agit d'une ampoule opaline). Si l'on s'aperçoit que l'image en question montre la même apparence de part et d'autre du foyer l'épaisseur de la lame est la bonne. Si en relevant l'objectif l'image de la flamme devient aussitôt floue et à bords mal définis, tandis qu'en l'abaissant l'image reste nette plus longtemps, cela indique que le condensateur est *sous-correcté* par une lame *trop mince*. Si les apparences sont renversées le condensateur est *sur-correcté*, la lame étant trop épaisse. Pour passer à ces défauts et rétablir la correction sphérique, agir comme il suit :

Condensateur sous-correcté par une lame trop mince. — Augmenter l'épaisseur de la lame par une ou plusieurs lamelles couvre-objet reliées à sa face inférieure par de l'huile de cèdre.

Un autre moyen est de dévisser légèrement la lentille supérieure du condensateur. Après avoir utilisé une de ces deux méthodes, vérifier si la correction est juste en relevant et en abaissant l'objectif comme il a été déjà décrit.

Condensateur sur-corrigé par une lame trop épaisse. — Il n'existe aucun remède. On peut parfois arranger les choses en rapprochant la lampe aussi près que possible du miroir (de même que l'on peut corriger la sous-corrrection en l'éloignant) mais ce moyen n'est pas à recommander car la source éclairante doit toujours rester à la position fixe de 250 mm. de la lentille inférieure du condensateur.

Le réglage du condensateur pour l'épaisseur de la lame n'est pas d'une importance aussi fondamentale que celui de l'objectif pour l'épaisseur de la lamelle, mais il n'est pas à négliger. Il a non seulement une influence sensible sur la perfection de l'image, mais il abrège considérablement les temps de pose en microphotographie. D'après le Dr A. C. Coles (« Critical Microscopy », p. 60), une lame trop mince a parfois besoin d'une exposition double de celle d'une lame de l'épaisseur juste lorsque le grossissement est de 1.000 diamètres.

Cette technique convient à tous les objectifs à sec depuis les plus forts jusqu'aux plus faibles. Elle ne diffère pas si l'on emploie un condensateur Abbé ou un condensateur à longue distance focale pour les petits grossissements.

Avec les objectifs à sec de puissance moyenne, le champ est plus éclairé au centre que vers les bords. Ceci n'est pas un inconvénient pour l'observation visuelle, car l'objectif présente ainsi son maximum d'efficacité dans les régions du champ qui sont les plus utilisées tandis que la périphérie sombre ne détourne pas l'attention et ne fatigue pas la vue.

Avec les objectifs moins forts que celui de 4 mm. de distance focale, il pourra être nécessaire d'orienter la lampe pour que la largeur de la mèche, au lieu de son profil, soit tournée vers le miroir afin de remplir une plus grande étendue du champ.

Pour la même raison, il est préférable, à moins de se

servir d'un condensateur spécial à longue distance focale, de dévisser la lentille frontale du condensateur lorsque l'on travaille avec les objectifs moins puissants que celui de 8 mm., afin de projeter une image plus grande de la source lumineuse dans le plan de la préparation.

En microphotographie, il sera nécessaire, pour obtenir un champ uniformément éclairé, de faire usage d'une lentille collectrice. La manière de s'en servir est décrite à la page 146.

Il est bon de mentionner en passant qu'avec les statifs non munis de vis de centrage pour le condensateur, on réussit parfois à centrer ce dernier tant bien que mal en le faisant tourner dans le tube porte-condensateur. Ces tubes n'étant pas des cylindres parfaits, on peut généralement trouver une position de meilleur centrage.

Technique à employer avec les objectifs faibles sans condensateur.

Avec les grossissements très faibles, il est souvent difficile, à moins d'être muni d'un condensateur à longue distance focale, d'éclairer tout le champ. A cause de cela, on peut, en travaillant avec les objectifs jusqu'à celui de 25 mm. de distance focale, employer le *miroir concave* sans l'intervention d'un condensateur.

A cette fin, on dévisse la partie optique du condensateur pour pouvoir utiliser le diaphragme iris seul et l'on abaisse ou l'on remonte le miroir le long de sa tige jusqu'à ce que l'image de la source lumineuse soit projetée dans le plan de la préparation.

Pour certains objets, on obtient de très bons résultats en employant à la place du miroir un disque de carton bristol glacé ou même une simple feuille de papier blanc.

Le réglage du cône éclairant se fait de la manière ordinaire, d'après l'aspect de la lentille postérieure de l'objectif.

La mise au point des objectifs faibles se fait unique-

ment au moyen du mécanisme de mise au point rapide pour ne pas fatiguer celui de la mise au point lente.

Il est probable que la course du mouvement rapide ne soit pas assez longue pour permettre la mise au point des objectifs de très longue distance focale (50 mm. et plus). Dans ce cas, on visse l'objectif dans la bague filetée à l'extrémité inférieure du tube à tirage. La longueur mécanique du tube devient ainsi très courte et de longueur invariable, mais cela n'est pas de grande importance, car les objectifs faibles jusqu'à 12 mm. de distance focale environ sont très peu sensibles aux variations de la longueur du tube et de l'épaisseur de la lamelle.

II) ECLAIRAGE OBLIQUE.

Dans l'éclairage oblique, au lieu de remplir entièrement ou presque entièrement la lentille postérieure de l'objectif avec un faisceau de lumière axiale, on n'en emploie qu'une portion excentrique en inclinant le faisceau lumineux sur l'axe optique.

L'éclairage oblique peut, sous certaines conditions, augmenter la résolution de l'objectif, mais les images qu'il donne ne ressemblent pas à la réalité et doivent être interprétées. L'apparition de certains détails est, en effet, accompagnée par la disparition d'autres et les apparences observées ne répondent même pas toujours à des objets *réels*, n'étant très souvent que des simples effets de diffraction. Il n'est pas rare non plus de faire apparaître des détails fictifs *en dehors* de l'objet examiné, du côté opposé de celui d'où arrivent les rayons lumineux.

L'éclairage oblique est basé sur cette notion de la théorie d'Abbé, suivant laquelle plus les détails sont fins et plus les faisceaux diffractés qu'ils produisent s'éloignent du faisceau direct.

Si l'on examine au microscope un objet, une diatomée par exemple, dont la structure est constituée par un ré-

seau très serré (fig. 11 A.), son image sera composée d'un faisceau direct « a » et de quatre faisceaux diffractés, « b, c, d » et « e », dont les distances du faisceau direct seront réglées par la finesse du réseau (fig. 12).

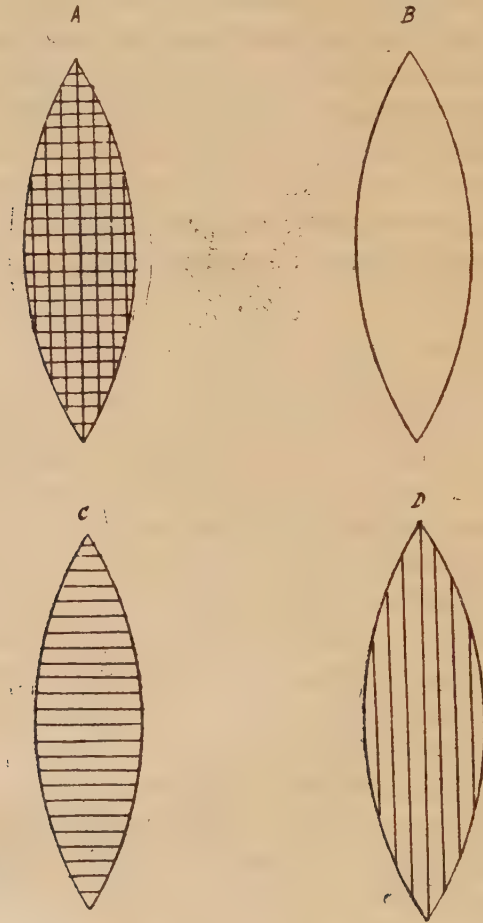


FIG. 11

Si l'ouverture numérique de l'objectif employé est telle qu'il ne puisse embrasser que le faisceau direct « a » (le cercle n° 1 représente la lentille postérieure de cet objectif), la diatomée ne montrera aucune structure visible (fig. 11 B.). Si maintenant on parvient à déplacer le fais-

ceau direct de façon à ce qu'il occupe la périphérie (position 2 de la fig. 12), au lieu du centre de la lentille postérieure — ce qui peut être obtenu en éclairant l'objectif par un faisceau oblique — il est clair que le faisceau diffracté « c » sera compris dans le cercle. L'aspect de la diatomée vue au microscope sera semblable à la fig. 11 C. et paraîtra barré de stries transversales. Elle présentera une striation longitudinale (fig. 11 D.) si le ou une partie du faisceau diffracté « d » pénètre dans l'objectif en même temps que le faisceau direct (fig. 12. Position 3). Enfin, si une portion de deux faisceaux, « d » et « e », accompagne le faisceau direct (fig. 12. Position 4), la diatomée montrera son réseau complet.

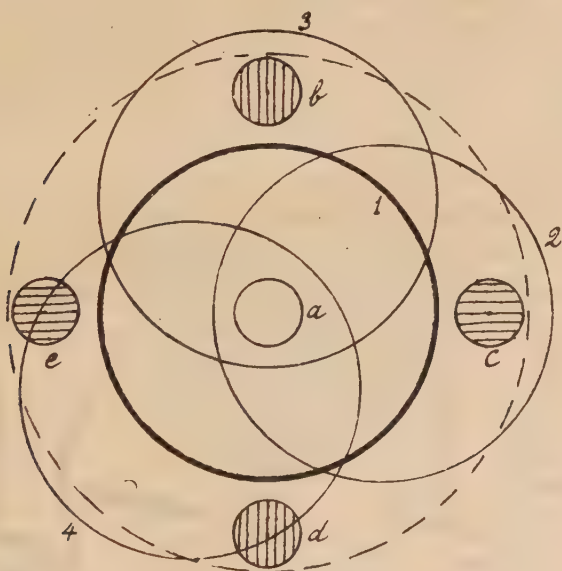


FIG 12

Deux images fictives de l'objet ont donc été produites par l'emploi de l'éclairage oblique, et même la dernière image sera tellement entachée d'effets variés dus à la diffraction et aux aberrations des zones les plus externes de

l'objectif, qu'elle ne présentera qu'une ressemblance approximative à la réalité.

Un résultat incomparablement supérieur sera obtenu en se servant d'un cône d'éclairage *axial* et d'un objectif d'ouverture numérique plus grande qui lui permette d'embrasser les faisceaux diffractés « b, c, d et e (fig. 12, cercle haché).

L'exemple employé ci-dessus a été choisi parmi les structures les plus simples ; les images fictives et les causes d'erreur sont considérablement multipliées quand on en aborde de plus compliquées et surtout celles dont les détails n'ont pas un arrangement périodique.

Comme les sujets étudiés en médecine appartiennent tous à cette dernière catégorie, il s'ensuit que l'éclairage oblique — si utile dans l'étude des diatomées ou les tests des qualités optiques des objectifs — ne sera probablement jamais employé. Pour cette raison, comme nous avons déjà eu l'occasion de le dire, les iris décentrables n'ont aucune raison d'être sur les statifs destinés aux médecins et devraient être remplacés par des vis de centrage pour le condensateur.



Eclairage axiale

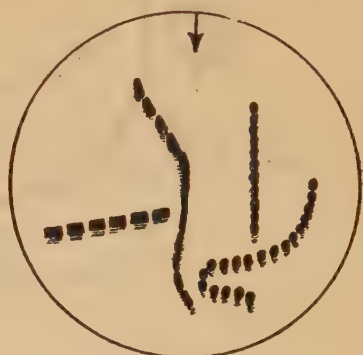


FIG. 13

Eclairage oblique

A titre d'avertissement nous reproduisons ci-dessous (fig. 13) l'apparence produite en éclairant une préparation bactériologique par de la lumière oblique venant de

la direction de la flèche à la partie supérieure du dessin. Comme on le voit, l'aspect des micro-organismes peut devenir méconnaissable et un bacille ou un streptocoque peut acquérir une ressemblance avec un filament plus ou moins épais.

Pour certains objets la meilleure visibilité des détails sous l'éclairage oblique provient de l'intensification artificielle des ombres due à l'angle d'incidence plus grand des rayons lumineux.

Technique de l'éclairage oblique. — En médecine la seule occasion où l'éclairage oblique pourrait rendre des services est pour l'étude, sous de faibles ou moyens grossissements, de structures très transparentes non colorées. Un éclairage suffisamment oblique peut être obtenu en modifiant tout simplement l'inclinaison du miroir jusqu'à ce que les détails de la préparation deviennent plus visibles grâce à l'intensification des ombres.



FIG. 14

Pour obtenir un éclairage encore plus oblique il faut mettre un diaphragme de forme appropriée dans le porte-diaphragme du condensateur (ou décentrer l'iris de ce dernier si le statif possède un iris décentrable). La meilleure forme de diaphragme est représentée dans la figure 14. Les dimensions du segment qui doit être découpé dans

le diaphragme dépend de l'ouverture numérique de l'objectif et du condensateur et du degré d'obliquité du faisceau lumineux que l'on veut obtenir. Sa surface est en proportion inverse de ces deux facteurs. Le diaphragme sera situé autant que possible dans le plan focal inférieur du condensateur et orienté de façon à ce que le faisceau de lumière oblique soit dirigé à angle droit aux détails que l'on veut mettre en évidence.

Pour cela on observe la position de l'objet à étudier que l'on soupçonne par exemple de posséder une striation transversale et on note que son grand axe traverse le champ de droite à gauche. On enlève l'oculaire et, en faisant tourner le diaphragme dans la monture mobile du porte-diaphragme, on oriente le faisceau oblique de façon à éclairer une région plus ou moins grande du zone externe *droit ou gauche* de la lentille postérieure. On replace ensuite l'oculaire et, si nécessaire, une petite retouche à la position du diaphragme fait ressortir les stries avec le maximum de netteté.

L'éclairage oblique demande à être manié avec prudence et circonspection. Quelle que soit la méthode employée

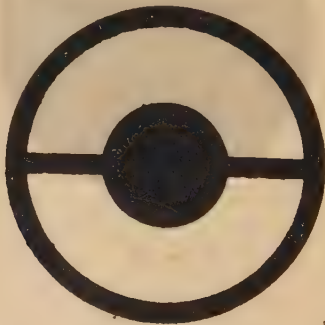


FIG. 15

pour l'obtenir, il ne faut jamais trop exagérer l'obliquité des rayons, et aucune image obtenue par ce moyen ne doit être acceptée comme réelle sans une confirmation de l'éclairage axial.

Eclairage annulaire. — L'éclairage annulaire est obtenu en employant un cône axial dont une partie des rayons centraux est arrêtée par un diaphragme en forme de disque opaque (fig. 15) placé dans le porte-diaphragme du condensateur. Le diamètre du disque dépend de l'ouverture numérique de l'objectif et du condensateur et ne doit pas être assez grand pour produire un fond noir en empêchant les rayons ~~obliques~~ périphériques d'entrer directement dans l'objectif. L'éclairage annulaire sert parfois à rendre plus visible une structure périodique comme celle des diatomées, mais il n'est d'aucune utilité pratique pour les travaux médicaux.

CHAPITRE VI

Eclairage par Lumière diffractée et par Lumière réfléchie

Eclairage par Lumière diffractée ou à fond noir.

L'éclairage à fond noir est surtout utilisé pour l'étude, à l'état vivant et sans coloration, de très petits organismes transparents ayant à peu près le même indice de réfraction que le liquide ambiant.

La technique diffère suivant qu'il s'agit d'objectifs dont l'ouverture numérique est inférieure ou supérieure à 0,65 environ. Avec les premiers un condensateur achromatique à sec muni d'un diaphragme central approprié suffit à obtenir l'effet voulu, avec les seconds il faut utiliser des condensateurs à immersion spéciaux. Un condensateur Abbé ordinaire peut donner un fond noir avec des objectifs jusqu'à 0,40 O. N. et un condensateur achromatique à immersion avec des objectifs jusqu'à 0,75 environ.

Pour obtenir un bon éclairage à fond noir il faut diriger sur l'objet à étudier des rayons tellement obliques qu'ils ne puissent pénétrer *directement* dans la lentille frontale de l'objectif. Cette dernière ne reçoit que les rayons qui sont diffractés (surtout) réfléchis ou réfractés par l'objet, qui semble alors briller d'une lumière propre sur un fond obscur. Il faut donc que le condensateur à fond noir ait une ouverture numérique supérieure à celle de l'objectif avec lequel il est employé et que le diaphragme central arrête tous les rayons de moindre ouverture

numérique que ce dernier. Ces conditions sont facilement réalisées avec les objectifs de faible ouverture numérique à grande distance frontale (fig. 16) mais il est très difficile à envoyer les rayons suivant une obliquité suffisante pour les objectifs de grande ouverture numérique qui ont une distance frontale extrêmement courte (fig. 17). C'est dans

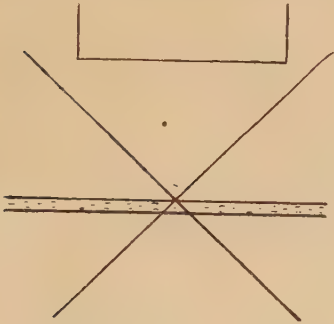


FIG. 16

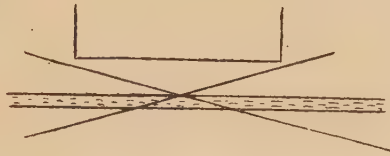


FIG. 17

ce dernier cas que les condensateurs à fond noir spéciaux doivent être employés.

Comme pour l'éclairage par lumière transmise, nous allons décrire la technique à suivre avec l'éclairage à fond noir en commençant par les objectifs les plus forts.

Eclairage à fond noir avec les objectifs à immersion et les condensateurs spéciaux. — Les règles fondamentales énoncées à la page 77 retiennent toute leur importance en fond noir et le but de la technique est de les satisfaire dans la mesure du possible. La seule différence avec l'éclairage axial est que l'objet à examiner est illuminé par un cône creux et que la lentille postérieure de l'objectif doit paraître entièrement remplie de lumière.

Technique à employer avec les objectifs à immersion homogène. Source d'éclairage. — Le travail avec les condensateurs à fond noir demande une source lumineuse d'une grande intensité. En effet, ce mode d'éclairage met en évidence les moindres aberrations des objectifs et mên-

me le spectre tertiaire des apochromates est rendu sensible. Il faut donc, pour obtenir les meilleurs résultats, faire usage des filtres monochromatiques qui deviennent cause d'une perte notable de lumière. De plus, si l'on veut examiner des objets transparents dont l'indice de réfraction ne diffère que peu de celui du milieu dans lequel ils sont plongés, il faut, pour les rendre visibles, diriger sur eux un faisceau éclairant très intense car ils ne dévient qu'un faible pourcentage de la lumière incidente. Il est vrai aussi qu'une trop grande intensité lumineuse rend indistincte à cause de l'irradiation un objet ayant un fort pouvoir réfléchissant, mais dans ce cas il est facile d'atténuer l'éclat de la source au moyen d'écrans appropriés.

Pour les raisons citées ci-dessous la lampe à pétrole — bien qu'il n'est pas impossible d'en tirer sous certaines conditions de bons résultats — n'est pas à recommander. Le bec de gaz à manchon incandescent est un peu mieux, mais les trois meilleures sources sont : 1) La lampe à acétylène ; 2) L'ampoule électrique de bas voltage à filament condensé ; 3) La lampe pointolite. La seconde forme d'éclairage est la plus économique et la plus facile à employer, mais la troisième est préférable pour les recherches délicates car elle permet, grâce à l'usage d'écrans, de faire varier l'intensité entre des limites considérables. Comme cette lampe présente une surface lumineuse de dimensions très réduites il faut, pour augmenter à volonté la portion éclairée du champ microscopique, avoir à sa disposition une loupe collectrice, préférablement achromatique et aplanétique.

Dans la description qui suit, la source lumineuse est une lampe Pointolite de 100 bougies et le collecteur est le modèle achromatique et aplanétique de Lemardeley de 7 cm. de distance focale.

Optique. Objectif. — Avec l'éclairage à fond noir les aberrations de l'objectif — et surtout l'aberration chromatique — sont beaucoup plus évidentes qu'avec l'éclairage

transmis. Pour cette raison, il faut autant que possible, employer les objectifs apochromatiques ou semi-apochromatiques. L'ouverture numérique de l'objectif doit être inférieure à celle du condensateur et ne pas dépasser la limite maxima indiquée par le fabricant. On peut réduire l'ouverture numérique des objectifs à immersion jusqu'au chiffre déterminé à l'aide de diaphragmes spéciaux à entonnoir placés aussi près que possible de la lentille postérieure. Toutefois, comme la meilleure position du diaphragme est *entre* les lentilles composantes de l'objectif, on obtient des résultats très supérieurs avec un objectif spécialement fabriqué pour être employé en fond noir qu'avec un objectif dont l'ouverture numérique a été réduite par un diaphragme amovible.

L'objectif utilisé dans les manipulations ci-dessous est un apochromaté de 2 mm. de distance focale (grossissement partiel 88) et de 1,20 O. N. Cet objectif peut être muni d'un diaphragme pour réduire son ouverture numérique à 0,95.

Oculaire. — Compensateur de 25 mm. de distance focale $\times 10$. Il est souvent recommandé pour le fond noir d'utiliser des objectifs de petit grossissement partiel avec des oculaires puissants. Il nous a toujours semblé que le contraire donne de meilleures images et que l'on ne gagne pas grand'chose en dépassant le grossissement de 10 à 15 pour l'oculaire.

Condensateur. — Condensateur à miroirs réglable de Beck. (Voir page 56). Ce condensateur nous a paru présenter le plus d'avantages de tous ceux que nous avons connus. Il peut être employé avec des objectifs de 1,20 O. N. si l'épaisseur de la lame ne dépasse pas 0,5 mm.

Miroir. — Plan en acier inoxydable.

Préparation. Milieu de montage. — A indice de réfraction égal ou supérieur à 1,33. Le milieu contenant les or-

ganismes ou les structures à observer doit être en couche aussi mince que possible. Il ne doit pas contenir de bulles d'air ou de corps étrangers. Si ces deux conditions ne sont pas observées, un fond bien noir ne peut être obtenu à cause de la grande quantité de lumière diffractée et réfléchiée par des objets autres que ceux étudiés. Cette lumière parasite, pour peu que la couche liquide soit épaisse et les corps étrangers nombreux, peut être suffisante pour noyer les détails et rendre toute observation impossible.

Lamelle. — De 0,18 mm. d'épaisseur.

Lame. — De 0,5 mm. d'épaisseur afin de pouvoir obtenir une ouverture numérique de 1,20 (Voir page 56).

La lame ainsi que la lamelle doivent être en verre de bonne qualité et nettoyées avec le plus grand soin car la moindre souillure devient très visible avec l'éclairage à fond noir. La surface des lames, et surtout des lamelles, ne doit pas être oxydée car ce défaut qui passe souvent inaperçu avec l'éclairage transmis est suffisant pour causer un brouillard plus ou moins dense avec l'éclairage par lumière diffractée.

1) MANIPULATIONS PRÉLIMINAIRES.

Le microscope est incliné à un angle commode (à moins que la préparation ne soit très fluide) et le tube à tirage est mis à la longueur mécanique appropriée.

La lampe est placée devant le microscope à une distance de 250 mm. de la lentille inférieure du condensateur. S'il s'agit d'une lampe Pointolite pour courant *alternatif*, il faut l'orienter pour que l'un des électrodes soit juste au-devant de l'autre, afin d'obtenir une source unique de lumière.

Centrage du faisceau lumineux réfléchi par le miroir. — Avant de commencer tout autre travail, il faut régler l'inclinaison du miroir afin de renvoyer le faisceau lumineux exactement le long de l'axe du tube du microscope.

Pour cela, enlever tout l'optique et, en regardant directement à travers le tube vide, incliner le miroir plan jusqu'à ce que la réflexion de la source lumineuse soit bien centrée par rapport au tube. Pour plus de précision, il est bon de regarder dans le tube en tenant l'œil à une trentaine de cm. de son extrémité supérieure. Une fois que ce centrage est effectué, la lampe et le miroir *ne doivent plus être touchés* (1).

Mise en position de l'optique. — On visse sur le revolver l'objectif à immersion et un objectif ordinaire de 25 mm. de distance focale. Le condensateur à fond noir est placé dans le cylindre porte-condensateur de la sous-platine après l'avoir réglé provisoirement pour l'épaisseur de la lame. Ce réglage est effectué en mettant la lame entre la cheville mobile « A » et l'anneau « B » et en tournant le levier « C » (fig. 18) jusqu'à ce que la la-

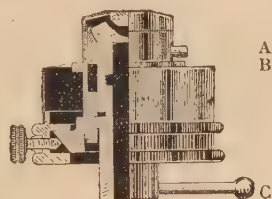


FIG. 18

me en question soit légèrement coincée. Ce réglage ne peut naturellement pas être fait avec les condensateurs à monture fixe.

(1) Une méthode plus exacte est de mettre sur le microscope un objectif de 25 mm. de D. F. et un condensateur à sec ordinaire. On centre ce dernier et on le met au point sur une préparation quelconque suivant la technique déjà décrite. Puis, en déplaçant le miroir, on amène l'image de la source lumineuse dans le centre du champ. En retirant le condensateur ordinaire pour le remplacer par celui à fond noir, il faut faire attention de ne pas heurter le miroir.

II) MISE AU POINT ET CENTRAGE PRÉPARATOIRE DE L'OPTIQUE.

Les opérations préparatoires se font avec l'objectif de 25 mm. de distance focale.

1) *Premier centrage du condensateur.* — L'objectif est mis au point sur la surface de la lentille supérieure du condensateur au centre de laquelle est gravée une croix ou (plus souvent) un ou plusieurs cercles. A l'aide des vis de centrage de la sous-platine, cette croix ou ce cercle est amené exactement au centre du champ. Il faut que la lentille supérieure soit très propre et exempte de toute trace d'huile de cèdre, autrement les repères gravés ne seront pas visibles.

La préparation est ensuite mise en position sur la platine après qu'une goutte d'huile de cèdre ait été déposée sur la surface inférieure de la lame et sur la lentille supérieure du condensateur. Puis, on remonte le condensateur avec le mécanisme de mise au point de la sous-platine jusqu'à contact entre les deux gouttes d'huile en faisant attention de ne pas y laisser pénétrer des bulles d'air. Comme, avec l'éclairage transmis, la présence d'une bulle d'air peut être décelée en examinant l'aspect de la lentille postérieure de l'objectif. Le condensateur doit être remonté jusqu'à toucher presque la lame.

2) *Mise au point de l'objectif.* — L'objectif est soigneusement mis au point sur la préparation et la région à étudier est placée au centre du champ.

3) *Mise au point du condensateur.* — Le condensateur projette sur l'objet un cône creux de lumière dont la fig. 19 représente une section verticale. Il faut, pour que l'objet soit éclairé, qu'il soit situé à l'apex exact du cône, en « a ». Il est clair que si le plan « b » ou le plan « c » passent par l'objet, ce dernier ne sera pas éclairé et que l'on verra dans le champ un anneau brillant à centre obscur (fig. 19).

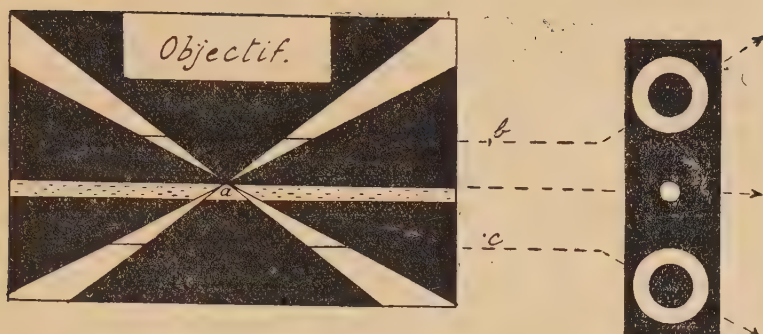


FIG. 19

Comme la mise au point provisoire a été déjà faite, il sera suffisant de tourner légèrement le levier « C » (fig. 18) vers la droite ou vers la gauche pour voir diminuer progressivement le diamètre de l'anneau lumineux jusqu'à ce qu'il soit remplacé par une petite tache brillante (fig. 19) qui est en réalité une image de la source éclairante. La position où cette tache a le plus petit diamètre possible est la position exacte de la mise au point du condensateur. Pour la mise au point des condensateurs à monture fixe, voir la page 120.

4) *Second centrage du condensateur.* — Le condensateur a déjà été centré au moyen du repère gravé sur sa lentille supérieure. Ce centrage peut être contrôlé en observant si la petite tache lumineuse décrite dans le paragraphe précédent est bien au centre du champ et en l'y amenant, si nécessaire, au moyen des vis de centrage de la sous-platine. Si, après avoir enlevé l'oculaire, on examine la lentille postérieure de l'objectif, il faut que celle-ci soit uniformément éclairée sur toute sa surface. Un déplacement de l'objectif vers le haut à l'aide du mouvement lent doit faire apparaître au centre exact de la lentille postérieure une petite tache brillante qui, si l'objectif est remonté suffisamment, sera entourée d'un anneau lumineux concentrique également éclairé sur tout son pourtour.

III) MISE AU POINT ET CENTRAGE FINAL DE L'OPTIQUE.

1) *Mise au point de l'objectif.* — On fait arriver en place l'objectif de 2 mm. de distance focale. On dépose une goutte d'huile de cèdre sur la lamelle couvre-objet et une autre sur la frontale de l'objectif. On abaisse ce dernier avec le mécanisme de mise au point rapide en ayant soin que des bulles d'air ne se forment pas dans l'huile de cèdre. (La présence de bulles d'air peut être décelée en examinant la lentille postérieure de l'objectif). Enfin, l'objectif est mis au point sur la préparation comme il a été indiqué à la page 82.

2) *Mise au point du condensateur.* — On déplace légèrement le levier « C » pour voir si la tache lumineuse qui se trouve dans le champ peut être rendue plus petite et plus brillante.

3) *Centrage du condensateur.* — Si la tache lumineuse n'est pas exactement au centre du champ, on l'y amène au moyen des vis de centrage de la sous-platine.

4) *Mise en position et réglage du collecteur.* — Avec une petite source d'éclairage comme la lampe Pointolite, il sera nécessaire d'utiliser une loupe collectrice quelconque si l'on désire illuminer le champ tout entier. Le collecteur est placé entre le miroir et la lampe à environ sa distance focale de cette dernière (7 cm. dans le cas présent), afin de projeter sur le miroir un faisceau parallèle ou légèrement convergent. Le meilleur moyen pour trouver la position exacte est de mettre un disque de papier sur le miroir et de déplacer lentement le collecteur de la lampe vers le miroir jusqu'à ce que sa surface entière soit uniformément éclairée. Il faut avoir soin à ce que le plan de la lentille soit bien à angle droit au faisceau lumineux, car s'il n'en est pas ainsi le miroir sera plus éclairé d'un côté que de l'autre.

Avec certaines sources lumineuses et certains condensateurs, on obtient un éclairage plus brillant en projetant *une image* de la source sur le miroir.

Quand la position du collecteur aura été trouvée d'après l'une ou l'autre de ces deux méthodes, il ne faudra plus le déplacer. Pour effectuer avec précision le réglage du collecteur, il est préférable de le monter entre des glissières.

Il existe dans le commerce des lampes spéciales pour l'éclairage au fond noir munies de lentilles pour projeter un faisceau parallèle. Certaines de ces lampes peuvent être placées sous le condensateur, à la place du miroir, d'autres sont même solidaires au condensateur et réglées en permanence avec ce dernier. Ces lampes sont extrêmement commodess pour les travaux de routine, mais, à cause de leur manque de souplesse, leur usage est moins indiqué pour les recherches délicates.

Avec certaines préparations, il peut être préférable de ne pas employer le collecteur afin de réduire la superficie de la région éclairée.

5) *Réglage du cône éclairant.* — Tout l'orifice inférieur du condensateur à fond noir doit être éclairé. Si donc le modèle de sous-platine est un de ceux où le diaphragme iris reste à demeure sur le statif, il faut avoir soin qu'il soit *grand ouvert* quand le condensateur est en position.

6) *Réglage pour rétablir la correction sphérique de l'optique :* a) *Objectif.* — L'éclairage à fond noir rend plus évident qu'avec la lumière transmise les moindres écarts de la correction sphérique. Pour cette raison, il faut effectuer la correction pour la lamelle et le milieu de montage avec le plus grand soin. Même quand il s'agit d'objectif à immersion homogène, on est obligé de faire cette correction chaque fois que le milieu entourant l'objet examiné a un indice de réfraction différent de celui du verre (1,54). Les objectifs à immersion homogène

n'étant pas pourvus de montures à correction, le réglage nécessaire se fait au moyen du tube à tirage comme il a été indiqué à la page 98.

b) *Condensateur.* — Aucun réglage, le condensateur étant à immersion.

7) *Réglage de l'intensité de l'éclairage. Ecrans colorés.* — Avec la source lumineuse employée (lampe Pointolite de 100 bougies) l'éclairage sera trop intense pour beaucoup de sujets. Cet état de choses est non seulement fatigant pour l'œil, mais il rend les détails moins nets à cause de l'irradiation. L'intensité de la lumière peut être atténuée jusqu'au degré qui donne les meilleurs résultats avec la préparation étudiée, au moyen de filtres en verre fumé placés dans le trajet des rayons lumineux. Beck fabrique un accessoire très commode qui permet de régler l'éclairage jusqu'au degré voulu à l'aide de deux coins de verre fumé montés sur un rapport à hauteur variable.

L'éclairage au fond noir rend très évidentes les aberrations chromatiques des objectifs et les apochromates même montrent leur spectre tertiaire. Pour cette raison, il est très avantageux de faire usage des filtres colorés pour obtenir une lumière approximativement monochromatique. Parmi les meilleurs de ces filtres sont le n° B 58 (vert, transmission de 4.600 à 6.900 Å) et le n° H 45 (bleu, transmission 4.200 à 5.400 Å) de Kodak (Wratten).

Technique à employer avec un objectif à immersion homogène de 3,5, de 3 ou de 2 mm. de distance focale et un condensateur à fond noir à monture fixe. — La technique à employer est la même que celle déjà décrite avec les différences suivantes :

Épaisseur de la lame. — L'épaisseur de la lame ne doit pas dépasser la limite indiquée par le constructeur pour le condensateur dont il s'agit, autrement il sera impossible de mettre au point ce dernier avant qu'il ne vient buter contre la lame.

Il ne faudra pas non plus que la lame soit trop mince pour ne pas que le contact de l'huile de cèdre soit rompu entre la lame et le condensateur lorsqu'on fait la mise au point. En cas de nécessité l'épaisseur de la lame peut être augmentée à l'aide d'une ou de plusieurs lamelles couvre-objet réunies à elle par de l'huile de cèdre.

Ouverture numérique de l'objectif employé. — Avec la plupart des condensateurs à monture fixe l'ouverture numérique de l'objectif employé ne doit pas dépasser 1,0. Il faut donc réduire toute ouverture numérique supérieure à l'aide de diaphragmes entonnoirs placés dans la monture de l'objectif. On obtient toutefois des meilleurs résultats en se servant des objectifs qui sont fabriqués exprès pour les travaux avec les condensateurs à fond noir et dont l'ouverture numérique est inférieure à 1,0.

Si l'ouverture numérique de l'objectif est supérieure à celle qui convient pour le modèle de condensateur utilisé, une partie des rayons obliques pénètrent directement dans la lentille frontale et le fond n'est pas complètement obscur. D'après certains auteurs, il serait plus facile de distinguer certains objets comme les cils des bactéries sur un fond grisâtre que sur un fond absolument noir.

Mise au point des condensateurs à monture fixe. — Avec un condensateur à monture fixe la mise au point s'effectue en déplaçant le condensateur en question à l'aide du mécanisme de mise au point de la sous-platine.

La technique de l'emploi des condensateurs à fond noir n'est pas différente si l'on emploie un objectif à immersion à eau au lieu d'un à immersion homogène.

Technique de l'emploi du condensateur à fond noir en sur-platine. — En ses grandes lignes la technique ne diffère pas de celle qui a été déjà exposée, mais les condensateurs en sur-platine sont d'un emploi beaucoup moins commode et moins efficace que les modèles qui se placent dans le tube de la sous-platine. Ce sont des instruments

pour ainsi dire rudimentaires qui peuvent à la rigueur suffire pour les travaux de routine mais non pour les recherches de précision.

Centrage du condensateur en sur-platine. — Le centrage s'effectue en déplaçant le condensateur sur la platine jusqu'à ce que le repère gravé sur sa surface supérieure soit au centre du champ d'un objectif de 25 mm. de distance focale.

Mise au point du condensateur en sur-platine. — A part quelques rares exceptions, les condensateurs à fond noir en sur-platine n'ont aucun dispositif de mise au point ; il faut donc adhérer très strictement à l'épaisseur de lame indiquée par le fabricant.

Dans certains modèles la mise au point exacte s'effectue au moyen d'un levier que l'on tourne vers la droite ou vers la gauche.

Technique à employer avec un condensateur achromatique et aplanétique à immersion pour l'éclairage à fond noir.

Condensateur achromatique et aplanétique à immersion 1,30 O. N. Objectif à sec de 4 mm. de distance focale, 0,70 O. N. — Il est possible d'obtenir un éclairage à fond noir très efficace pour les objectifs dont l'ouverture numérique ne dépasse pas 0,75 en utilisant un condensateur achromatique à immersion muni d'un diaphragme central approprié placé aussi près que possible de son plan focal postérieur. L'avantage de cette méthode est la grande luminosité du condensateur à immersion et la possibilité de changer instantanément de l'éclairage à fond noir à l'éclairage par lumière transmise. Pour profiter au maximum de cette propriété, la source lumineuse choisie doit convenir également à ces deux modes d'éclairage.

1) *Manipulations préliminaires.* — La lampe Pointolite est trop intense pour le travail visuel à la lumière transmise, il est donc préférable d'avoir de nouveau recours à la lampe à pétrole dont la flamme est placée de profil à une distance de 250 mm. de la lentille inférieure du condensateur. L'objectif de 4 mm. et un de 25 mm. de distance focale sont vissés sur le revolver. La préparation est placée sur la platine et unie de la façon ordinaire à la frontale du condensateur par de l'huile de cèdre. L'épaisseur de la lame ne doit pas être supérieure à la distance frontale du condensateur.

II) *Mise au point. Centrage et réglage préparatoire de l'optique.* — Les opérations préparatoires se font avec l'objectif de 25 mm. de distance focale et 1) la mise au point de l'objectif ; 2) la mise au point du condensateur ; 3) le centrage du condensateur, sont effectués exactement comme il a été déjà décrit à la page 78.

Après ces manipulations on procède au :

4) *Choix du diaphragme central.* — La formule qui indique approximativement le diamètre du diaphragme opaque central nécessaire pour obtenir le meilleur éclairage à fond noir avec un objectif et un condensateur donné est la suivante :

L'ouverture numérique à masquer doit être d'environ 10 % supérieure à celle de l'objectif utilisé.

Le diamètre en millimètres du diaphragme est trouvé en multipliant le double de l'ouverture numérique à masquer par la distance focale en millimètres du condensateur.

Dans le cas présent, avec un objectif de 0,70 O. N. et un condensateur de 6 mm. de distance focale (moyenne de la plupart des condensateurs achromatiques à immersion), on aura les chiffres suivants :

$$0,70 + 0,07 = 0,77$$

$$0,77 \times 2 = 1,54$$

$$1,54 \times 6 = 9,24$$

On placera donc dans le porte-diaphragme du condensateur un diaphragme opaque découpé dans du bristol noirci suivant le modèle représenté dans la figure 15, dont le disque central aura un diamètre de 9,5 mm. environ. Il sera prudent de faire en même temps plusieurs autres diaphragmes à diamètres variant de 8,5 à 10,5 mm. en cas où celui de 9,5 mm. ne donnerait pas les résultats attendus.

5) *Centrage du diaphragme central opaque.* — Le moyen le plus simple pour savoir si le centre du diaphragme coïncide bien avec l'axe optique du condensateur est le suivant : Avant de commencer les manipulations on enlève le condensateur du cylindre porte-condensateur et on le retourne afin de voir sa partie inférieure. Puis on ferme le diaphragme iris et on observe si le disque du diaphragme central placé dans le porte-diaphragme est bien concentrique à l'ouverture de l'iris. Si ceci est le cas, on sait que, lorsque le condensateur aura été centré au moyen de l'ouverture de l'iris, le diaphragme opaque se trouvera dans l'axe optique une fois qu'il sera mis en place.

6) *Réglage du diaphragme central.* — Le diaphragme central choisi est placé dans le porte-diaphragme sous le condensateur et le diaphragme iris de ce dernier est complètement ouvert. On voit alors au milieu du champ obscur une tache de lumière plus ou moins brillante. A l'aide du mécanisme de mise au point de la sous-platine on remonte ou on abaisse très lentement le condensateur, sans trop s'éloigner, toutefois, de sa position de mise au point, jusqu'à ce que la tache en question soit aussi petite et aussi brillante que possible.

III. *Mise au point. Centrage et réglage final de l'optique :*

1) *Mise au point de l'objectif.* — L'objectif de 25 mm. de distance focale est remplacé par celui de 4 mm. et ce dernier est soigneusement mis au point sur la prépara-

tion. On remarquera que maintenant la région éclairée occupe une plus grande portion du champ.

2) *Mise au point du condensateur.* — On remonte ou on abaisse le condensateur avec le mouvement de mise au point de la sous-platine jusqu'à obtenir le meilleur effet. Si l'on remarque que le fond reste grisâtre (surtout vers la périphérie) au lieu d'être noir cela indique que le diaphragme central est trop petit. Il est trop grand au contraire si la préparation ne semble pas suffisamment éclairée.

Il sera probablement nécessaire d'essayer plusieurs différents diaphragmes avant de découvrir celui qui convient le mieux pour l'objectif employé, mais une fois trouvé il sera toujours le même. Il existe un diaphragme à centre réglable (diaphragme Traviss) avec lequel le diamètre optimum est obtenu avec la plus grande facilité.

3) *Centrage du condensateur.* — On n'a qu'à amener le centre de la tache brillante exactement au centre du champ à l'aide des vis de centrage de la sous-platine. Si l'on désire à n'importe quel instant vérifier le centrage exact, il faut rejeter de côté le porte-diaphragme contenant le diaphragme central et refaire le centrage du condensateur de la manière ordinaire au moyen du diaphragme iris fermé. On ouvre ensuite l'iris au maximum et on remet en place le porte-diaphragme.

On remarquera que la région éclairée n'occupe pas tout le champ. On peut augmenter, si on le désire, la surface de cette région en orientant la lampe de façon à présenter la largeur de la flamme au miroir. On obtient une surface éclairée encore plus grande en interposant un collecteur entre le miroir et la source lumineuse comme il a été expliqué à propos des condensateurs spéciaux pour fond noir. Le désavantage de cette méthode est que l'éclairage du champ est moins intense bien que réparti sur une région plus étendue.

4) *Réglage pour rétablir la correction sphérique de l'optique.* — a) *Objectif.* — Sous l'éclairage à fond noir l'aberration sphérique est beaucoup plus sensible qu'avec l'éclairage par lumière transmise. Il faut donc faire avec le plus grand soin la correction pour l'épaisseur de la lamelle. Cette correction sera effectuée à l'aide de la monture à correction, si l'objectif en est pourvu, ou à l'aide du tube à tirage.

b) *Condensateur.* — Aucun réglage, le condensateur étant à immersion. (En employant pour le fond noir un condensateur achromatique à sec, le réglage pour l'épaisseur de la lame s'effectue de lui-même pendant la mise au point du condensateur. La distance frontale du condensateur varie en effet, suivant l'épaisseur de la lame. On obtient toutefois les meilleurs résultats en utilisant des lames de l'épaisseur pour laquelle le condensateur a été corrigé).

5) *Réglage de l'intensité de l'éclairage.* — La source lumineuse étant dans le cas présent une lampe à pétrole, il est peu probable qu'il sera nécessaire d'atténuer l'éclairage. Cette atténuation peut toutefois être effectuée de la manière ordinaire au moyen d'écrans colorés.

TECHNIQUE A EMPLOYER AVEC UN CONDENSATEUR ACHROMATIQUE A SEC POUR L'ÉCLAIRAGE A FOND NOIR.

Condensateur achromatique à sec 1,0 O. N., objectif de 0,65 O. N. au maximum. — Le mode d'emploi est le même qu'avec les condensateurs à immersion excepté naturellement que l'on ne met pas de l'huile de cèdre entre la lame et le condensateur.

La technique ne change pas si l'on emploie un condensateur Abbé ordinaire avec la seule différence que dans ce cas on ne peut faire usage d'objectifs dont l'ouverture numérique dépasse 0,40.

TECHNIQUE DE L'EMPLOI DE L'ÉCLAIRAGE A FOND NOIR POUR L'EXAMEN DES PRÉPARATIONS COLORÉES.

Cette méthode, décrite pour la première fois par le D^r A. C. Coles (« Parasitology » VII, 1913-1914, p. 48-49. « Brit. Med. Journal », 27 Nov. 1915, p. 777, « Critical Microscopy », p. 70-75), mérite d'être plus généralement connue qu'elle ne l'est.

Ce moyen de recherche est basé sur le fait que les objets colorés par un colorant fluorescent (éosine, fuchisne, fluorescéine, etc.) s'illuminent très vivement au fond noir, tandis que ceux colorés en bleu restent plus ou moins obscures. Cette visibilité dépend aussi d'un autre facteur ; elle est d'autant plus grande que l'indice de réfraction du milieu de montage diffère plus de celui des organismes étudiés. L'indice de réfraction des bactéries étant d'environ 1,55, il s'ensuit qu'ils seront généralement plus difficiles à déceler dans le baume de Canada, l'huile de cèdre (I. R. 1,54) et même l'eau (I. R. 1,33) que sur une préparation sèche examinée avec un objectif à sec.

Comme condensateur à fond noir le D^r Coles conseille l'emploi d'un condensateur achromatique à immersion muni d'un diaphragme central de diamètre approprié. Source lumineuse : Lampe à pétrole. Faisceau parallélisé par une lentille collectrice.

Ce condensateur présente pour ce genre de travail des avantages notables sur les condensateurs spéciaux pour fond noir. On n'est pas obligé de mettre de l'huile entre le condensateur et la lame et on peut passer instantanément du fond noir au fond clair en écartant le diaphragme central de l'axe optique. L'objectif à employer est un apochromate de 8 mm. de distance focale et de 0,65 O. N. (grossissement partiel 20). Joint à l'avantage d'un champ étendu, cet objectif peut donner des grossissements assez forts (300 diamètres avec un oculaire $\times 15$) pour rendre visible la plupart des micro-organismes pathogènes.

Les préparations sont examinées à sec *sans lamelle couvree-objet*, ce qui permet, quand un organisme quelconque a été découvert, de l'examiner sur fond clair de la manière ordinaire avec un objectif à immersion après avoir écarté le diaphragme central. Pour observer ainsi une préparation sans lamelle il faut, pour rétablir la correction sphérique, allonger beaucoup le tube à tirage. La longueur à donner dépend de l'objectif employé ; avec l'apochromate Zeiss de 8 mm. de distance focale en notre possession la longueur optima du tube est de 203 mm.

La méthode de l'examen au fond noir d'une préparation colorée est précieuse pour déceler la présence de micro-organismes lorsque ces derniers ne s'y trouvent qu'en très petit nombre. Les organismes en question, ne seraient-ils qu'au taux de un ou deux dans la préparation, seront découverts grâce à cette technique alors qu'il y aurait de grandes chances de ne pas les remarquer avec les méthodes ordinaires.

Malheureusement cette technique se trouve en défaut lorsque la préparation contient beaucoup de granulations réfractives dont la luminosité peut masquer celle des organismes. Dans ce cas, on peut réduire la visibilité des granules par rapport à celle des organismes et rendre ces derniers plus apparents en enduisant la préparation d'un peu d'huile de paraffine (I. R. 1,47).

Eclairage par lumière réfléchie.

L'éclairage par lumière réfléchie est utilisé pour l'observation des objets opaques dont les dimensions sont trop grandes pour permettre de les illuminer par lumière diffractée. La lumière est dirigée sur les objets en question soit verticalement de haut en bas, soit suivant un angle plus ou moins incliné sur la normale.

Nous décrirons d'abord la seconde méthode qui peut

être réalisée sans appareils spéciaux, en utilisant le miroir concave du statif ou une loupe collectrice ordinaire.

En médecine l'éclairage par lumière réfléchie n'est que très rarement employé. Il peut toutefois rendre des services, comme par exemple en anatomie pathologique pour l'examen, sous de faibles grossissements, de gros fragments d'organes ou en parasitologie pour l'étude, à l'état naturel ou même vivant, de parasites de grande taille qui n'ont pas été rendus transparents par des artifices de préparation.

Eclairage des objets opaques par un faisceau lumineux formant un angle plus ou moins incliné sur la normale. —

Il est préférable d'éclairer les objets opaques avec un faisceau lumineux aussi vertical que possible pour ne pas exagérer les ombres et fausser ainsi l'aspect des objets en question ou même de ne les illuminer qu'à moitié si leur centre est plus élevé que les régions périphériques. Il est clair toutefois que plus l'objectif employé est puissant et plus sa distance frontale est petite, plus on est obligé d'incliner le faisceau pour pouvoir l'insinuer entre la lentille frontale et la préparation afin d'éclairer cette dernière. Il est évident aussi que, pour obtenir les meilleurs résultats, il faut que l'objet soit à sec et *non recouvert d'une lamelle* autrement la lumière réfléchie sur la surface du couvre-objet produit une voile laiteuse qui masque les détails. Pour ces deux raisons on ne peut avec cette méthode employer des objectifs dont la distance focale est plus petite que 8 mm.

Le faisceau éclairant peut être dirigé sur l'objet soit avec un miroir concave, soit avec une lentille convergente. Le miroir suffit pour les objectifs faibles de plus de 25 mm. de distance focale environ ; la lentille sert pour les objectifs plus puissants.

TECHNIQUE A EMPLOYER AVEC LES OBJECTIFS JUSQU'A 25 mm.
DE DISTANCE FOCAL EN UTILISANT UN MIROIR CONCAVE.

Le miroir concave du statif convient parfaitement pour ce genre d'éclairage s'il est monté sur un pied indépendant qui permette de faire varier son inclinaison et sa hauteur. La colonne verticale de ce support doit être assez longue pour que le miroir puisse être placé, si nécessaire, à 10 cm. au-dessus de la platine.

Source d'éclairage. — Toute source lumineuse peut servir à ce genre d'éclairage pourvu qu'elle ne soit pas si intense que les détails soient noyés par l'irradiation. Naturellement les grossissements forts ont besoin de plus de lumière que les grossissements faibles. Quand le miroir concave est employé la meilleure position de la lampe est soit à droite, soit à gauche du statif à une distance de 250 mm.

Optique. Objectif. — A distance focale égale ou plus grande que 25 mm.

Oculaire. — Ordinaire de Huyghens. 50 mm. de distance focale $\times 5$.

Condensateur. — Aucun.

Miroir. — Concave, monté sur un support indépendant.

Préparation. Milieu de montage. — A sec.

Lamelle. — Aucune.

Lame. — Epaisseur indifférente. On obtient parfois des meilleurs effets en montant l'objet à étudier sur un disque de vernis ou de papier noir. Si l'objet est de grande dimensions, il peut être examiné dans un cristalliseur ou tout autre récipient approprié placé sur la platine.

1) *Manipulations préliminaires.* — Si la nature de l'objet le permet, le microscope est incliné à un angle commode. Le tube à tirage est mis à la longueur correcte et l'objectif est vissé sur le revolver ou à l'extrémité inférieure.

re du tube à tirage si sa distance focale est très grande. La lampe est placée à gauche du statif à une distance de 250 mm. et le miroir sur son support est mis sur la droite du microscope.

II) *Mise au point et réglage de l'optique.*

1) *Réglage du miroir concave.* — Le miroir est remonté aussi haut que possible sur son support et rapproché tout contre le côté droit de la platine (côté opposé à la lampe) en ayant soin que les rayons lumineux puissent lui arriver de la source sans être masqués par des portions du statif. On fait varier ensuite l'inclinaison du miroir, sa hauteur sur son support et la distance de ce dernier à la platine jusqu'à ce que l'on concentre sur l'objet à examiner une image aussi petite et aussi brillante que possible de la source éclairante. On cherche aussi à ce que le faisceau lumineux fasse le plus petit angle possible avec la normale pour ne pas trop exagérer les ombres.

2) *Mise au point de l'objectif.* — La mise au point de l'objectif se fait de la manière ordinaire.

3) *Réglage du cône éclairant.* — Il n'existe aucun moyen de régler le cône éclairant qui pénètre dans l'objectif, mais on peut améliorer beaucoup l'image en prenant les précautions suivantes : a) Pour éviter, autant que possible, les rayons parasites, restreindre au maximum la région éclairée de l'objet en mettant ce dernier bien au foyer du miroir concave ; b) Pour empêcher l'irradiation réduire, si nécessaire, l'intensité de la source lumineuse au moyen d'écrans de verre fumé placés devant la lampe.

4) *Réglage pour rétablir la correction sphérique de l'optique.* — L'objectif employé étant de faible grossissement, ce réglage n'est pas de rigueur. Il peut toutefois être effectué suivant la technique ordinaire.

Technique à employer avec les objectifs jusqu'à 8 mm. de distance focale en utilisant une lentille convergente.

— Toute lentille convergente peut servir pour l'éclairage des objets opaques, mais il est préférable de faire usage d'une lentille plan-convexe ou, mieux encore, d'un collecteur achromatique et aplanétique.

Avec les objectifs jusqu'à 12 mm. de distance focale environ, la technique est simple. La lentille convergente est placée du même côté du microscope que la lampe, avec sa face plane (si c'est une lentille plan-convexe) tournée vers cette dernière. La lentille est d'abord rapprochée aussi près que possible de la platine. On l'éloigne ensuite lentement jusqu'à ce qu'une image aussi petite et aussi brillante que possible de la source soit concentrée sur la préparation. De même qu'avec le miroir concave, il faut incliner le moins que l'on peut le faisceau éclairant.

Si l'objet étudié possède une surface très irrégulière qui produit des ombres très marquées, on peut obtenir un meilleur effet en l'éclairant d'un côté avec la lentille convergente et de l'autre avec un miroir concave ou même avec un simple morceau de bristol blanc glacé.

Avec les objectifs de distance focale moindre que 8 mm., on éprouve beaucoup de difficultés à insinuer le faisceau éclairant entre la préparation et l'objectif à cause de la petite distance frontale de ce dernier. Dans ce cas, il faut faire usage d'une lentille plan-convexe et la placer de façon à ce que sa surface plane, tournée vers le haut, soit presque parallèle au faisceau éclairant comme dans la fig. 20. La lumière est condensée par la face bombée de la lentille et puis réfléchiée par la face plane en un ruban assez étroit pour passer entre la préparation et la frontale d'un objectif assez puissant, de 6 et même de 5 mm. de distance focale (Conrad Beck. « The Microscope », p. 39).

Eclairage des objets opaques avec un faisceau lumineux dirigé verticalement de haut en bas. — Avec les objectifs puissants, il n'est plus possible d'illuminer l'objet à exa-

miner avec un faisceau plus ou moins horizontal. On est obligé alors d'avoir recours aux *illuminateurs verticaux* qui permettent l'emploi des objectifs les plus puissants, même ceux à immersion homogène (objectifs à monture courte). Ces illuminateurs, toutefois, ne sont pas utilisés

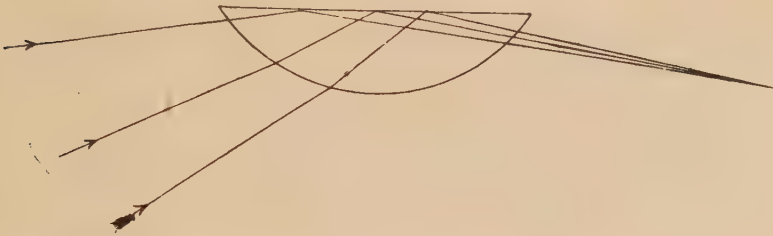


FIG. 20

pour les recherches médicales et sortent pour cette raison des cadres du travail présent.

Causes d'erreurs en microscopie.

Les erreurs en microscopie se réduisent toutes en dernier compte à des erreurs d'interprétation ; c'est-à-dire que le micrographe se fait une idée fausse sur la nature de la préparation étudiée.

Toutefois, les erreurs d'interprétation peuvent être rangées en deux catégories :

I) Les erreurs d'interprétation provenant d'une faute de technique microscopique, quand le micrographe n'a pas obtenu une image de l'objet examiné qui soit conforme à la réalité.

II) Les erreurs d'interprétation proprement dites, quand, l'image microscopique étant correcte, le micrographe l'a mal comprise.

Il est supposé, bien entendu, qu'il n'y a pas eu de faute flagrante dans la *préparation* de la structure à examiner (coupe, coloration, etc.), car autrement il faudrait créer

une troisième catégorie pour les erreurs dues à une préparation défectueuse.

1) ERREURS D'INTERPRÉTATION PROVENANT D'UNE FAUTE DE TECHNIQUE.

Les fautes de technique microscopique dérivent surtout de quatre causes :

- 1) Un mauvais centrage de l'optique.
- 2) Une mauvaise mise au point du condensateur.
- 3) Un mauvais réglage du cône éclairant.
- 4) Une mauvaise correction sphérique de l'optique.

1) *Mauvais centrage de l'optique.* — Le fait que le condensateur ne soit pas exactement centré sur l'axe optique de l'objectif peut donner lieu à plusieurs causes d'erreurs. La lentille postérieure de l'objectif n'est pas uniformément éclairée, ce qui produit un certain degré d'éclairage oblique avec tous les désavantages concomitants (voir p. 105) ; l'excellence des corrections de l'objectif est troublée, d'où une influence nuisible sur la netteté de l'image ; l'ouverture numérique de l'objectif est mal utilisée et le pouvoir résolvant en souffre.

2) *Mauvaise mise au point du condensateur.* — Si le condensateur n'est pas bien mis au point, il est impossible de remplir de lumière toute la superficie de la lentille postérieure de l'objectif. Il en résulte que l'on n'utilise pas son ouverture numérique maxima et sa puissance de résolution est considérablement réduite. On peut s'assurer de la réalité de ce fait en examinant la lentille postérieure de l'objectif. Celle-ci est entièrement remplie de lumière quand le condensateur est au point. (Il va sans dire que l'ouverture numérique du condensateur doit être du même ordre de grandeur que celle de l'objectif). Si l'on remonte trop le condensateur, deux taches sombres font leur apparition, tandis que si le condensateur est trop

bas une image de la source lumineuse est visible dans la lentille postérieure.

3) *Mauvais réglage du cône éclairant.* — Le mauvais réglage du cône éclairant est une des erreurs les plus souvent rencontrées. Les micrographes non avertis ont presque toujours une tendance de trop fermer le diaphragme iris du condensateur pour donner plus de contraste aux objets transparents et les rendre plus facilement visibles. Cette pratique est funeste. Il est vrai que certains détails deviennent plus apparents, mais, l'ouverture numérique de l'objectif étant réduite, les fins détails disparaissent complètement. Même les détails qui restent sont souvent rendus méconnaissables par les effets de diffraction. Les micro-organismes semblent posséder des capsules ou des cils qui n'ont aucune existence réelle, les intervalles entre certaines structures sont comblés, les lignes fines sont élargies ou fondues ensemble et l'image microscopique entière — bien qu'elle semble présenter un aspect plus vigoureux à l'examen superficiel — se montre floue et confuse à une étude approfondie.

Pendant l'examen d'objets très petits et très transparents, la fermeture de l'iris ne peut fournir que trois ordres de renseignements — renseignements tout relatifs qui ne doivent être acceptés qu'avec la plus grande prudence. Ce procédé peut donner des indications sur :

- a) La présence.
- b) La motilité.
- c) Les dimensions (très approximatives et fort exagérées par les effets de diffraction).

Il ne peut rien apprendre sur la véritable forme ni sur les détails des objets ainsi observés.

Une erreur beaucoup moins fréquemment rencontrée (car 9 fois sur 10 les sources éclairantes employées pour l'observation visuelle sont trop intenses) est un diaphragme iris trop ouvert. Dans ce cas, l'image est noyée par

un surcroît de lumière et les détails disparaissent ou semblent faibles et imprécis.

4) *Mauvaise correction sphérique de l'optique.* a) *De l'objectif.* — Nous avons déjà signalé plusieurs fois que si l'objectif n'a pas été bien réglé pour l'épaisseur de la lamelle, la définition en souffre et les détails montrent un flou plus ou moins apparent. Un autre inconvénient peut en résulter : D'après la théorie d'Abbé, ce sont les zones marginaux de l'objectif qui fournissent l'image des détails les plus délicats de l'objet étudié, tandis que les zones centraux fournissent l'image des détails plus grossiers. Or, dans un objectif dont la correction sphérique laisse à désirer, les foyers de ses régions centrales et de ses régions marginaux ne seront pas sur le même plan. Si donc l'objet étudié, supposé parfaitement plan, est examiné avec un objectif sur-corrigé, les détails délicats auront leur position de mise au point *au-dessus* de celle des contours et des détails grossiers. Le micrographe croirait avoir affaire à un objet *bombé*. Le contraire aura lieu avec un objectif sous-corrigé et le micrographe pensera voir une structure *concave*. Il est inutile de demeurer plus longtemps sur les erreurs d'interprétation qui pourraient résulter de ces aspects.

b) *Du condensateur.* — Si le condensateur n'est pas bien réglé pour l'épaisseur de la lame, son ouverture numérique est réduite et il est parfois difficile ou impossible de remplir entièrement de lumière la lentille postérieure de l'objectif, ce qui diminue à son tour l'ouverture numérique de ce dernier.

II) ERREURS D'INTERPRÉTATION PROPREMENT DITES.

Il serait impossible — et pour cause — de dresser une liste, même sommaire, de toutes les erreurs d'interprétation qui peuvent se présenter en microscopie. Nous nous

contenterons seulement de signaler brièvement certains corps étrangers qui, étant pour beaucoup d'entre eux en suspension dans l'atmosphère, peuvent être rencontrés dans les préparations les plus soigneusement faites et induire en erreur le micrographe non averti.

1) *La présence dans la préparation de substances dont l'indice de réfraction est différent de celui du milieu de montage.* — Bulles d'air. (Il n'est pas rare dans une préparation de sang de voir dans le centre des hématies une bulle d'air qui imite un peu l'aspect d'un hématozoaire). Globules graisseux. Globules aqueux dans les préparations à milieu résineux. Gouttelettes de vapeur d'eau condensées sur la face inférieure de la lamelle d'une préparation à sec.

2) *La présence de substances étrangères sur la surface de la lamelle.* — Poussières. Traces de doigt. Gélatine, huile de cèdre, baume de Canada. Rayures et fêlures de la lamelle.

3) *La présence dans la préparation de corps étrangers provenant de l'atmosphère* (ou de l'alimentation du malade s'il s'agit d'un examen de crachat ou de fèces). *Du règne minéral* : Grains de sable, de suie, etc.

Du règne végétal : Grains d'amidon de la pomme de terre, du blé, du riz, des légumineuses, etc. Fibres de lin, de coton, de bois du plancher ou des meubles ; de la paille, des poils, du tissu cellulaire et des vaisseaux spiralés de plantes diverses. Du pollen, des spores de truffes ou de champignons.

Beaucoup de ces corps peuvent être trouvés dans les matières fécales et ne doivent pas être pris pour des parasites intestinaux ou pour leurs œufs.

Du règne animal : Poils provenant de l'homme, des animaux domestiques ou des vêtements ; laine, soie, fourrures, etc. Portions de duvet ou de plumes qui peuvent parfois simuler l'aspect des vaisseaux lymphatiques. Ecailles et poils de papillons, de teignes ou d'autres insectes.

A cette liste on pourrait ajouter encore :

4) *Mouvements spontanés et modifications provenant de causes physiques.* — Mouvement brownien ou pedesis : Mouvement de particules très petites dans un milieu liquide qui est parfois pris pour des déplacements actifs d'organismes vivants. Mouvements à l'intérieur de la préparation dus à la capillarité. Modifications de la préparation provenant de l'osmose. Certains corps augmentent de volume si le liquide qu'ils contiennent est plus dense que le milieu extérieur et se flétrissent si le contraire a lieu.

Formation de précipités, de dépôts ou de cristaux dans les milieux de montage.

CHAPITRE VII

Procédés pour enregistrer les Observations

Ces procédés ont comme but de déterminer de l'objet étudié :

I) Les dimensions : 1) épaisseur ; 2) longueur et largeur.

II) La forme.

III) La position.

I) PROCÉDÉS POUR DÉTERMINER LES DIMENSIONS D'UN OBJET.

1) *Épaisseur.* — L'épaisseur d'un objet examiné au microscope est trouvée au moyen du tambour divisé du bouton de commande de la mise au point lente. On met successivement au point le plan inférieur et le plan supérieur de l'objet et on lit le trajet parcouru par la frontale de l'objectif sur la graduation du tambour. On multiplie ensuite le chiffre ainsi obtenu par l'indice de réfraction du milieu qui entoure l'objet afin de trouver l'épaisseur vraie de ce dernier.

On cherche, par exemple, l'épaisseur d'un objet monté dans de l'eau distillée (I. R. = 1,336). Sur le tambour divisé on lit le chiffre de 0,04 mm. On le multiplie par 1,336 et on trouve 0,053 mm. qui est l'épaisseur à déterminer.

Pour résumer : L'épaisseur vraie d'un objet est trouvée en multipliant l'épaisseur apparente lue sur le tambour du mouvement lent par l'indice de réfraction du milieu qui entoure l'objet en question.

L'interposition d'une lamelle de verre entre l'objet et l'objectif ne fausse pas cette loi car l'effet qu'elle produit est identique pour le plan inférieur et le plan supérieur de l'objet. Le nombre final obtenu n'est donc pas modifié.

2) *Longueur et largeur. Procédé de l'oculaire micrométrique.* C'est le procédé le plus simple et le plus rapide. Avant de commencer, il faut établir la valeur exacte d'une division du micromètre oculaire pour chaque objectif. A cette fin on place un *micromètre objectif* sur la platine du microscope et, après l'avoir bien mis au point, on compte le nombre de divisions du micromètre objectif qui correspondent à une division du micromètre oculaire. Si, en employant un micromètre objectif dont chaque division est égale à 0,01 mm., on trouve qu'avec un objectif donné cinq divisions du micromètre objectif correspondent à une division du micromètre oculaire, il est clair que la division en question représente 0,05 mm. ou 50 microns. On peut maintenant effectuer les mensurations voulues sans plus avoir recours au micromètre objectif. Un objet dont la longueur équivaldrait, par exemple, à trois divisions du micromètre oculaire, aurait une longueur vraie de $0,05 \times 3 = 0,15$ mm.

Si une division du micromètre oculaire ne correspond pas à un nombre exact de divisions du micromètre objectif, on prend le plus grand nombre de divisions du micromètre oculaire qui correspondent à un nombre entier de divisions du micromètre objectif et on établit une moyenne. Il est même préférable de procéder toujours de cette manière pour réduire autant que possible les causes d'erreur provenant de petites variations individuelles entre les divisions de l'échelle. Si 10 divisions, par exemple, du micromètre oculaire coïncident avec 44 divisions du micromètre objectif, chaque division du premier micromètre vaut 0,044 mm. En étalonnant le micromètre oculaire avec un objectif puissant,

les traits du micromètre objectif se montrent avec une assez grande épaisseur ; pour ne pas trop fausser le résultat, il faut donc faire coïncider les traits du micromètre oculaire avec un point toujours identique des traits du micromètre objectif. Lorsque l'on veut étalonner le micromètre oculaire avec un objectif à immersion, il faut avoir soin de ne pas mettre du liquide d'immersion sur le micromètre objectif, car les traits gravés sur ce dernier deviendraient alors invisibles. En se servant de l'objectif sans liquide d'immersion, on a tout de même une image assez nette pour distinguer les traits de l'échelle.

Enfin, il ne faut pas perdre de vue que les chiffres trouvés ne sont valables que pour la longueur du tube à tirage et pour l'oculaire avec lesquels ils ont été obtenus. Si l'on modifie la longueur du tube à tirage ou si l'on transfère le micromètre amovible à un autre oculaire, il faut recommencer l'étalonnement.

Procédé de la chambre claire. — L'objet à mesurer est dessiné au moyen d'une chambre claire de modèle quelconque. Puis, sans rien déranger, on remplace la préparation qui est sur la platine par le micromètre objectif et on inscrit l'image de l'échelle graduée dans un coin du dessin. Il est maintenant facile, à l'aide d'une paire de compas, de trouver les dimensions exactes de l'objet étudié.

Cette méthode est la plus sûre pour la mensuration des détails de forme irrégulière, spiroïde ou enroulée. Pour évaluer la longueur, on peut se servir d'une paire de compas ou d'un mince fil de coton légèrement mouillé que l'on fait épouser la forme de l'objet. On compare ensuite la longueur obtenue à l'échelle graduée inscrite sur le dessin.

Procédé de la platine à chariot. — Si le microscope possède une platine à chariot de construction soignée et munie de verniers, on peut mesurer avec une approximation très suffisante les objets de dimensions relativement gran-

des dont la longueur déborde du champ. A cette fin, on place le micromètre objectif sur la platine et on amène l'extrémité gauche de l'échelle divisée en contact avec le bord gauche du champ. On note alors la graduation du vernier et on déplace ensuite l'échelle jusqu'à ce que son extrémité droite touche le bord gauche du champ. En lisant de nouveau le vernier, on peut facilement évaluer le nombre de divisions de celui-ci qui correspondent à un déplacement de 1 mm. Il est bon de recommencer cette opération plusieurs fois en de divers points de la course de la platine à chariot et de prendre une moyenne. Lorsqu'on est en possession du chiffre qui équivaut à un déplacement de 1 mm., on peut mesurer, par la lecture du vernier, les dimensions d'un objet quelconque en amenant d'abord son extrémité gauche et puis son extrémité droite en contact avec le bord gauche du champ.

II) PROCÉDÉS POUR DÉTERMINER LA FORME D'UN OBJET.

On détermine la forme d'un objet soit par le dessin, soit par la photographie.

Indications pour l'usage des appareils à dessiner en général.

Pour obtenir les meilleurs résultats avec les appareils à dessiner, il faut satisfaire deux règles :

- 1) Réaliser l'égalité d'éclairage de l'image provenant du microscope et de celle du crayon et du papier.
- 2) Empêcher toute déformation de l'image microscopique.

1) *Réglage de l'éclairage.* — Il faut d'abord trouver si c'est l'image du champ du microscope ou celle du papier qui est trop brillante. Si c'est le champ du microscope, alors la pointe du crayon est indistincte ou invisible. On y remédie en diminuant l'éclat du champ à l'aide de ver-

res fumés placés dans le porte-diaphragme du condensateur ou devant la source éclairante. Dans certaines circonstances, on a un résultat analogue en fermant légèrement le diaphragme iris du condensateur, mais ce moyen n'est pas généralement à recommander, car il brouille l'image et produit des effets de diffraction trompeurs. Une méthode alternative est d'augmenter l'éclairage du papier à dessin. A cette fin, une lampe auxiliaire est souvent très utile.

Si l'on s'aperçoit que le crayon et le papier sont bien visibles, mais que l'on ne distingue pas les détails de l'image microscopique, cela indique que cette dernière est trop sombre. Il faut alors augmenter l'éclairage du microscope à l'aide d'une lampe plus brillante ou d'un condensateur plus puissant, ou diminuer, à l'aide d'un écran approprié, la luminosité du papier à dessin. La plupart des appareils sont munis de verres fumés qui peuvent être interposés sur le trajet des rayons provenant du papier pour en diminuer l'éclat. Quand l'éclairage des deux champs est bien réglé, on voit distinctement à la fois les détails de l'image microscopique et la pointe du crayon qui doit les tracer. Avec les objectifs faibles, c'est généralement le champ microscopique qui est trop éclairé. Le contraire a lieu avec les objectifs moyens et forts. Pour cette raison, il ne faut pas, avec ces derniers objectifs, employer des oculaires trop puissants pour ne pas avoir une trop grande perte de lumière. Un oculaire $\times 3$ ou $\times 5$ est généralement le plus préférable.

Il peut arriver enfin que le micrographe, bien qu'ayant réglé l'intensité des deux champs, n'arrive pas à distinguer nettement l'extrémité du crayon tout en voyant distinctement l'image fournie par le microscope. Dans la plupart des cas, cela provient de ce que la distance du papier à dessin n'est pas celle qui convient à sa vue. La distance de la vision normale est de 250 mm., et c'est à cette distance qu'il faut placer le papier et le crayon pour

les voir distinctement et les superposer à l'image microscopique sans accommodation et sans fatigue. Si la vue du micrographe n'est pas normale, il devra prendre soin de mettre le papier à la distance qui lui est la plus favorable ; plus près de 250 mm. s'il est myope, plus loin s'il est atteint de presbyopie.

2) *Précautions pour empêcher les déformations de l'image.* — Pour empêcher toute déformation de l'image microscopique, il faut que la surface du papier à dessin soit absolument unie. Il faut aussi que le plan du papier ait l'inclinaison correcte. Il est généralement nécessaire que son plan soit identique à celui de la platine. Parfois, il est indispensable que les bords droit et gauche du papier soient parallèles aux bords droit et gauche de la platine, mais que son plan soit incliné vers le microscope suivant un angle plus ou moins grand. Pour obtenir commodément toutes ces inclinaisons variées, il est bon de se servir d'une table à dessiner réglable.

Il est très facile de s'assurer si l'on a obtenu l'angle correct pour que l'image ne soit pas déformée. Il suffit de tracer sur le papier un cercle et de voir si l'on peut le faire coïncider exactement au cercle du champ ou tout au moins le situer concentriquement à ce dernier. On peut aussi mesurer les dimensions du champ sur deux diamètres à angle droit et voir si les deux nombres trouvés sont concordants. Si la circonférence du champ forme un cercle parfait, les proportions du dessin ne seront pas déformées. Certains appareils à dessiner, toutefois, grossissent les régions marginales de l'image microscopique aux dépens des régions centrales ; pour cette raison, il est préférable de n'utiliser que la portion centrale du champ pour faire le dessin.

Il ne faut pas perdre de vue que les chambres claires ne peuvent servir qu'à dessiner les contours d'un objet et ses principaux détails. Pour achever le travail on enlève la chambre claire et, en regardant alternativement l'image

microscopique et le dessin, on complète ce dernier aussi soigneusement que possible.

Emploi du réseau oculaire de Bazin. — Cet appareil consiste en un disque de verre mince portant un quadrillage dont les carrés ont 1 mm. de côté. Ce disque est introduit dans l'oculaire (de préférence un $\times 5$) de façon à ce que la face gravée repose sur le diaphragme interne.

Pour exécuter le dessin on prépare d'avance du papier quadrillé à une échelle quelconque et on y reproduit l'aspect du réseau oculaire. Pour ceux qui possèdent déjà quelques notions de dessin, cette méthode est probablement la plus facile et la plus expéditive de toutes.

Indications pour l'emploi de la microphotographie.

Il serait impossible dans les cadres restreints du présent travail de consacrer assez de place pour une description détaillée des méthodes microphotographiques. Pour cette raison nous nous contenterons de quelques pages seulement sur la technique de l'éclairage en microphotographie, car ce sujet — dont l'importance prime tout — ne reçoit en général qu'une description fort sommaire dans la plupart des traités.

Les buts à atteindre en microphotographie sont :

1) D'éclairer uniformément le champ microscopique en sacrifiant le moins possible les qualités optiques de l'image.

2) D'éclairer seulement la région de la préparation contenue dans le champ afin de réduire au minimum les rayons parasites qui pourraient entrer dans l'objectif et diminuer la netteté de l'image.

3) D'éclairer uniformément et entièrement la lentille postérieure de l'objectif pour ne pas réduire son ouverture numérique. (Il va sans dire que l'on n'emploie que les $3/4$ environ de l'ouverture de l'objectif exactement comme pour l'observation visuelle, et pour les mêmes raisons).

Technique de l'éclairage en microphotographie.

La première condition pour avoir un bon cliché microphotographique est d'obtenir *une image visuelle parfaite* en suivant les méthodes déjà décrites dans cette monographie.

Il faut aussi — surtout avec les forts grossissements — employer une source éclairante assez intense (acétylène, lampe Pointolite, etc.) pour abréger autant que possible le temps de pose.

Comme les sources de grand éclat intrinsèque ont une surface lumineuse très petite, on est obligé, pour éclairer uniformément tout le champ du microscope, de faire usage d'une loupe collectrice quelconque — préférablement achromatique et aplanétique. Le collecteur de Lemardeley nous a paru convenir parfaitement pour ce genre de travail. Il a un diamètre de 6 et une distance focale de 7 cm.

Mode d'emploi du collecteur.

Premier cas. Microphotographie avec un objectif puissant.

Optique. Objectif. — Apochromate à immersion homogène de 2 mm. de distance focale et de 1,40 O. N.

Oculaire. — Compensateur $\times 10$.

Condensateur. — Achromatique et aplanétique à immersion, 1,30 O. N.

Miroir. — Plan en acier inoxydable.

Préparation. — A indice de réfraction égal ou supérieur à 1,54.

Source d'éclairage. — Lampe Pointolite de 100 bougies.

Collecteur. — Achromatique et aplanétique de 7 cm. de distance focale.

1) *Réglage de la position du collecteur.* — Quand le microscope a été réglé pour avoir la meilleure image visuelle (pour cette manipulation atténuer l'intensité de la

source au moyen d'un filtre approprié) on mesure l'ouverture du diaphragme iris du condensateur, que l'on trouve être égale à 16 mm. par exemple. La surface incandescente de l'électrode de la lampe est un disque dont le diamètre est de 4 mm. environ. Il est nécessaire, pour obtenir le meilleur résultat, de remplir entièrement de lumière l'ouverture de l'iris. Il faut donc projeter sur ce dernier *une image nette* de l'électrode d'un diamètre suffisant pour couvrir en totalité l'ouverture en question. Il est préférable que ce disque lumineux déborde sur tout le pourtour de l'ouverture de l'iris afin que la région qui tombe dans l'ouverture ait sur toute sa surface *une intensité uniforme*.

L'image de la lampe devra donc être agrandie de 4 fois. ($16 : 4 = 4$) ou plutôt de 5 afin de tenir compte de la portion qui débordera sur la circonférence de l'ouverture du diaphragme iris.

Il est maintenant nécessaire de calculer les positions à donner au collecteur et à la lampe pour arriver à ce résultat.

La formule suivante offre la solution du problème :

1) Si l'on représente par « x » le produit de la distance focale du collecteur par le grossissement à obtenir, on a :

$x + \text{la distance focale du collecteur} = \text{la distance du collecteur à l'iris du condensateur.}$

2) La distance ainsi trouvée divisée par le grossissement à obtenir donne la distance du collecteur à la lampe.

3) La somme des deux distances trouvées est égale à la distance de la lampe à l'iris du condensateur.

Dans le cas présent on a :

Distance focale du collecteur = 7 cm.

Grossissement à obtenir = 5 fois. D'où :

$$\begin{array}{rcl} 7 \times 5 & = & 35 \\ 42 : 5 & = & 8,4 \\ 42 + 8,4 & = & 50,4 \end{array} \qquad \begin{array}{rcl} 35 + 7 & = & 42 \end{array}$$

Cela indique que, pour obtenir le résultat cherché, il faut placer le collecteur à 42 cm. de l'iris du condensateur et à 8,4 cm. de la lampe.

La distance de la lampe à l'iris du condensateur est de 50,4 cm.

2) *Réglage de l'éclairage du champ microscopique.*

Il importe maintenant d'obtenir que seul le champ du microscope soit éclairé et non les autres régions de la préparation. Pour cela on se sert d'un *diaphragme iris auxiliaire* monté sur un pied indépendant que l'on place entre le collecteur et le condensateur à une distance de 250 mm. de ce dernier. C'est l'ouverture de cet iris qui sera utilisée comme source d'éclairage.

On ferme l'iris auxiliaire et, au moyen de la crémaillère du condensateur du microscope, on fait la mise au point exacte de son image dans le plan de la préparation. Enfin on ouvre doucement l'iris auxiliaire jusqu'à ce que ses bords encadrent le champ que l'on désire photographier.

Note. — Il va sans dire que pour toutes ces manipulations on a supposé que les centres de l'électrode de la lampe, du collecteur, de l'iris auxiliaire et du condensateur du microscope soient tous sur le même axe optique. Il est facile de réaliser cette condition en réglant d'avance les divers accessoires sur un banc optique ou, à la rigueur, entre deux simples glissières de bois ou de métal.

Deuxième cas. Microphotographie avec un objectif moyen.

Objectif de 4 mm. de distance focale, 0,80 O. N. Condensateur à sec. — Après avoir réglé le microscope pour l'observation visuelle, on mesure l'ouverture du diaphragme iris du condensateur que l'on trouve être de 12 mm. Il faudra donc que l'image de la source éclairante soit grossie de 3 fois ($12 : 4 = 3$) ou plutôt de 3,5 fois pour la couvrir.

En calculant les distances de la lampe et du collecteur au moyen de la formule, on trouve :

$$\begin{array}{rcl} 7 \times 3,5 & = & 24,5 \\ 31,5 : 3,5 & = & 9 \\ 31,5 + 9 & = & 40,5 \end{array} \quad \begin{array}{rcl} 24,5 + 7 & = & 31,5 \end{array}$$

Il faut donc placer la lampe à 40,5 cm. de l'iris du condensateur et le collecteur à 9 cm. de la lampe.

Comme dans le 1^{er} cas, l'iris auxiliaire sera situé à 250 mm. de l'iris du condensateur. Toutes les autres manipulations seront les mêmes que dans le premier cas.

Troisième cas. Microphotographie avec un objectif faible.

Objectif de 12 mm. de distance focale 0,30 O. N.

Ouverture du diaphragme iris du condensateur = 8^{mm}.

8 : 4 = 2, mais il est préférable d'agrandir l'image de l'électrode de 2,5 fois.

En employant la formule on obtient :

$$\begin{array}{rcl} 7 \times 2,5 & = & 17,5 \\ 24,5 : 2,5 & = & 9,8 \\ 24,5 + 9,8 & = & 34,3 \end{array} \quad \begin{array}{rcl} 17,5 + 7 & = & 24,5 \end{array}$$

C'est-à-dire : Lampe à 34,3 cm. de l'iris du condensateur.

Collecteur à 9,8 cm. de la lampe.

L'iris auxiliaire doit être rapproché autant que possible de la face du collecteur qui est tourné vers le microscope pour que sa distance ne diffère pas trop de la distance correcte de 250 mm.

Enfin, pour que tout le champ soit éclairé, il sera probablement nécessaire de dévisser la lentille supérieure du condensateur. Avant de mettre au point l'ouverture de l'iris auxiliaire.

Quatrième cas. Microphotographie avec un objectif très faible.

Objectif de 50 mm. de distance focale. — En employant la méthode déjà décrite, on trouvera probablement que le champ n'est pas uniformément éclairé même lorsqu'on a dévissé la lentille supérieure du condensateur. Il faut alors employer la technique suivante :

a) Placer la lampe à 40 cm. environ de l'iris du condensateur.

b) Placer le collecteur à sa distance focale — c'est-à-dire à 7 cm. de la lampe afin d'avoir un faisceau parallèle.

c) Obtenir une lentille bi-convexe ayant une distance focale double de celle du collecteur (c'est-à-dire une distance focale de 14 cm.) et le même diamètre environ que ce dernier. Cette lentille, montée sur un support indépendant, servira de *collecteur auxiliaire* et sera placée à une distance de 14 cm. (égale à sa distance focale) de l'iris du condensateur.

L'iris auxiliaire est placé aussi près que possible du collecteur (*non* du collecteur auxiliaire) et son image est projetée au moyen du condensateur dans le plan de la préparation comme dans les cas précédents. Le champ sera maintenant uniformément éclairé.

Avec les objectifs faibles il est plus facile d'éclairer entièrement le champ si l'on emploie un condensateur spécial à longue distance focale.

Après avoir exécuté les diverses manipulations déjà décrites, on met en position la chambre photographique et on règle la mise au point sur le verre dépoli ou le verre plan. Mais, dernière remarque *extrêmement importante*, ce réglage ne doit être effectué qu'avec la *monture à correction* ou le *tube à tirage* sous peine de troubler la correction sphérique de l'objectif que l'on a déjà ajusté pour l'épaisseur de la lamelle. Ce n'est que la toute dernière retouche à la mise au point qui peut, au besoin, être faite avec la vis micrométrique.

Note. — Il peut souvent être nécessaire de chercher la distance focale d'un collecteur ou d'une lentille convergente quelconque. Le procédé le plus rapide est le suivant : On place devant une source lumineuse (ampoule opaline, etc.) un écran opaque muni d'une fente de 5 mm. de largeur sur 8 mm. de longueur environ.

On met en face de cette fente la lentille dont on désire mesurer la distance focale et on place derrière cette lentille et en contact avec elle un miroir plan. En tenant la lentille bien d'aplomb, on projette sur l'écran à côté de la fente une image de cette fente elle-même. On rapproche ou on éloigne la lentille jusqu'à ce que l'image et la fente aient exactement les mêmes dimensions. On mesure alors la distance entre l'écran et la lentille et le nombre trouvé exprime la distance focale de la lentille en question avec une approximation très suffisante. (D^r Duncan, J. Reid, « The Principles of Illumination in Photomicrography ». « Journ. of the Photomicrographic Soc. » Vol. X, n^o 1, fév. 1921).

Quelques dernières recommandations pour la microphotographie.

1) Utiliser des filtres colorés appropriés au sujet à photographier. Le rendement des objectifs achromatiques est très amélioré par l'emploi de lumière approximativement monochromatique.

2) Utiliser des plaques sensibles à la couleur du filtre employé. On obtient les meilleurs résultats avec des plaques anti-halo à grain très fin.

3) Laisser les divers appareils en place, la source éclairante étant allumée, une demi-heure environ avant la prise des photographies, pour qu'ils aient le temps de prendre une température constante. Beaucoup de clichés sont ratés par des changements de la mise au point causés par des contractions ou des dilatations des diverses parties du microscope provoqués par des variations de leur température.

4) Avant de faire la mise au point finale sur le verre dépoli ou le verre transparent, il est bon de frapper plusieurs coups secs sur la table à côté du microscope pour « tasser » les diverses pièces et rendre plus stable le réglage subséquent.

En microphotographie les vibrations sont beaucoup moins à redouter que les chocs ou tout autre cause qui peut faire varier la mise au point de l'objectif ; les 9/10 des insuccès ont cette origine. Pour cette raison, après avoir terminé la pose et retiré le châssis, il faut toujours remettre le verre dépoli et vérifier de nouveau la mise au point. Si elle est juste le cliché sera très probablement satisfaisant ; si elle a varié le cliché sera presque certainement mauvais.

5) Faire très attention aux réflexions parasites. Ne pas laisser des rayons extérieurs frapper les parties métalliques de l'objectif ou la surface supérieure de la préparation.

III) PROCÉDÉS POUR DÉTERMINER LA POSITION D'UN OBJET.

On peut déterminer la position d'un objet ou d'un détail intéressant dans une préparation par deux procédés différents :

1) En encadrant l'objet lui-même d'un cercle ou de tout autre repère tracé sur la lamelle couvre-objet.

2) En prenant les coordonnées de l'objet par une méthode quelconque.

Le premier rayon est le plus rapide et le plus sûr surtout si l'on a à envoyer la préparation pour être étudiée par une personne éloignée. On peut rendre un détail facilement trouvable en traçant autour de lui sur la lamelle un petit cercle à l'aide d'un marqueur à pointe de diamant, accessible procurable chez la plupart des maisons d'optique.

Si l'on ne possède pas cet instrument, on peut obtenir un résultat analogue de la façon suivante : On met soi-

gneusement l'objet à repérer au centre du champ d'un objectif moyen. Puis on remonte autant que possible le tube du microscope et on ferme presque complètement l'iris du condensateur. On peut maintenant voir sur la préparation, en regardant celle-ci directement à l'œil nu, un minuscule cercle lumineux que l'on rend aussi petit que possible en fermant davantage le diaphragme. Il est facile alors d'encadrer ce cercle de quatre points tangents en se servant d'une plume très fine et de l'encre de Chine. On vérifie ensuite au moyen d'un objectif faible si l'objet est bien situé au centre des quatre points noirs. Les taches d'encre de Chine peuvent subsister très longtemps et résistent assez bien à l'action de l'huile de cèdre. Si l'on veut pourtant marquer la préparation d'une manière permanente on peut, en face de chaque point d'encre, graver un petit trait à l'aide d'un diamant de vitrier.

La seconde méthode pour déterminer la position d'un objet, celle des coordonnées, demande plus de temps que la première. Si la platine à chariot est munie d'une échelle divisée et de verniers, on peut en faire usage pour déterminer la position d'un détail de la préparation. Malheureusement, les chiffres ainsi obtenus ne sont pas valables pour un autre microscope ni même parfois pour le statif qui les a fournis s'il y a le moindre jeu dans le mécanisme de la platine.

Il existe divers autres systèmes pour déterminer les coordonnées d'un objet (voir « Précis de Microscopie » de M. Langeron, Ed. 1925, p. 248-250) mais ils sont tous plus compliqués que celui qui consiste à tracer un repère autour de l'objet en question.

CHAPITRE VIII

Les Microscopes Binoculaires

Les microscopes décrits jusqu'ici sont tous du type monoculaire. Il existe aussi des microscopes binoculaires qui ont l'avantage d'utiliser les deux yeux et de fournir dans un certain point une image *stéréoscopique* de l'objet examiné, ce qui permet de le voir suivant un aspect plus conforme à la réalité.

Il existe deux types de microscopes binoculaires :

- 1) Les microscopes binoculaires à deux objectifs.
- 2) Les microscopes binoculaires à un objectif.

1) *Microscopes binoculaires à deux objectifs.* — Les microscopes binoculaires à deux objectifs sont représentés par les microscopes du modèle Greenough qui est trop connu pour qu'il soit nécessaire de le décrire dans ce travail.

Le Greenough donne une image stéréoscopique réelle mais il ne peut être utilisé efficacement pour des grossissements dépassant une centaine de diamètres.

2) *Microscopes binoculaires à un objectif.* — Les microscopes binoculaires à un objectif diffèrent du modèle précédent en ce qu'ils peuvent être employés avec les plus forts grossissements et même avec les objectifs à immersion. Il en existe deux types : Dans le premier le faisceau lumineux provenant de l'objectif est *divisé* en deux moitiés par les arrêts de deux prismes superposés. Dans le second le faisceau est *dédoublé* au moyen de deux prismes dont la surface de séparation est recouverte d'une couche

argentée semi transparente. Les binoculaires du premier type sont à rejeter absolument car ce système de diviser le faisceau lumineux réduit en même temps de moitié l'ouverture numérique de l'objectif employé. Le second type est de beaucoup le plus préférable. Ce type — d'abord construit par Leitz en 1913 — est maintenant vendu avec de légères modifications par la plupart des grandes maisons d'optique. Il peut donner la vision stéréoscopique (1) si l'on a soin de régler la distance entre les axes des deux oculaires de façon qu'elle soit un peu plus petite que la distance interpupillaire.

Il est pourtant à noter que cette manœuvre a l'effet de priver de lumière la moitié interne de l'image de la lentille postérieure de l'objectif qui se voit par réflexion dans le prisme si on enlève l'oculaire. Il contrevient ainsi une des lois qui gouvernent l'obtention d'une image véridique de l'objet examiné, celle qui exige que la lentille postérieure soit uniformément éclairée. Les résultats obtenus par son aide doivent donc être acceptés avec circonspection.

Si la distance qui sépare les axes des deux oculaires est identique à la distance interpupillaire on n'obtient pas d'effet stéréoscopique, mais on a le grand avantage que ne présentent pas les microscopes monoculaires d'employer les deux yeux à la fois. La définition est pourtant un peu inférieure à celle des microscopes monoculaires et il faut toujours avoir recours à ces derniers pour les travaux les plus délicats.

Si la distance entre les axes des deux oculaires est supérieure à la distance interpupillaire on obtient une vision *pseudoscopique* où tous les reliefs sont remplacés par des creux.

(1) La vision stéréoscopique fournie par les microscopes binoculaires *mono-objectifs* est pour une grande part illusoire. Sous certaines conditions, néanmoins, elle reproduit jusqu'à un certain point l'aspect réel et peut donner des indications assez précises sur la forme véritable de l'objet étudié. Il faut interpréter prudemment les images ainsi obtenues car les reliefs sont souvent fort exagérés, surtout avec les grossissements élevés.

La plupart des maisons d'optique fabriquent ce modèle de microscope binoculaire avec les deux tubes parallèles ; une minorité les livrent avec une inclinaison de 4° sur la normale. Notre préférence personnelle est pour la première forme mais certaines personnes trouvent le travail plus agréable avec le modèle à tubes inclinés.

Mode d'emploi. — La technique de l'emploi des microscopes binoculaires est la même que celle déjà décrite pour les monoculaires. Il faut surtout faire attention aux points suivants :

1) Bien régler la distance entre les axes des deux oculaires. Elle doit être moindre que la distance interpupillaire si l'on désire obtenir un effet stéréoscopique.

2) Faire la mise au point pour les deux yeux séparément si ces derniers n'ont pas une vue identique. Pour cela mettre au point une préparation quelconque au moyen des mécanismes de mise au point en ne regardant qu'avec l'œil droit. Puis, *sans toucher aux mécanismes du statif*, faire la mise au point pour l'œil gauche seul en se servant de la bague molettée dont le tube oculaire gauche est pourvu. Cette bague porte des divisions numérotées et le réglage peut être fait une fois pour toutes si l'on note la division qui est amenée en face du repère.

3) Régler le cône éclairant de la manière ordinaire au moyen de l'iris du condensateur. L'image de la lentille postérieure peut être vue dans les prismes si l'on enlève l'oculaire. La source éclairante doit être environ deux fois plus intense pour les microscopes binoculaires que pour les monoculaires. Il est important d'obtenir l'égalité d'éclairage des deux champs en réglant convenablement l'inclinaison du miroir.

4) Les faibles grossissements à part, faire usage autant que possible des objectifs à monture de correction ou des objectifs à immersion, car les microscopes binoculaires ne possèdent pas de tube à tirage pour corriger l'influence de

la lamelle couvre-objet. Ne pas employer des oculaires trop puissants ; le $\times 5$ et le $\times 7$ donnent les meilleurs résultats.

Avantages des microscopes binoculaires. — Les microscopes binoculaires peuvent rendre de grands services, car, outre le soulagement et le repos qu'ils procurent à la vue, l'image stéréoscopique qu'ils fournissent facilite l'étude de certaines classes d'objets. Ils ne peuvent pas toutefois détrôner les monoculaires pour l'observation des détails les plus fins. Pour cette raison, les grands statifs sont très souvent dotés de deux corps — monoculaire et bino-culaire — interchangeables.

Conclusions

Il est important de se munir d'un statif et d'un optique approprié au travail à entreprendre. Le condensateur a une influence primordiale sur le rendement de l'objectif. Il faut que ses aberrations soient aussi soigneusement corrigées que celles de l'objectif et que son ouverture numérique ne soit pas très inférieure à celle de ce dernier, résultats offerts seulement par les condensateurs achromatiques et aplanétiques. L'emploi des condensateurs achromatiques ordinaires réduit l'ouverture numérique — et par conséquent le pouvoir séparateur — des objectifs puissants dans des proportions qui peuvent atteindre et même dépasser les 30 %.

La source éclairante joue aussi un rôle considérable. Elle doit présenter une surface uniformément éclairée, ce qui exclut les ampoules à filament incandescent nu. La source la plus avantageuse pour l'observation visuelle est la lampe à pétrole à mèche plate de 13 mm. de largeur.

Pour obtenir les meilleures images microscopiques :

Il est indispensable de ne pas déranger les corrections de l'objectif, et pour cette raison il est nécessaire, non seulement de neutraliser les aberrations introduites par la lamelle couvre-objet, mais aussi de réduire au minimum celles dues au condensateur, au miroir et à la source lumineuse.

Il est tout aussi indispensable de projeter une image nette de la source éclairante dans le plan de la préparation afin de pouvoir remplir la lentille postérieure de l'objectif de lu-

mière et d'utiliser le maximum possible de son pouvoir séparateur. Ces deux conditions impliquent la nécessité de munir la sous-platine d'un mécanisme de mise au point et de vis de centrage pour le condensateur.

Une mauvaise technique jointe à un optique mal assorti peut réduire de moitié le pouvoir séparateur du meilleur objectif et nuire considérablement à sa définition.

Enfin il faut que le micrographe soit toujours en garde contre les fausses images et qu'il sache que les apparences trompeuses sont produites le plus souvent par un mauvais maniement du daphragme iris du condensateur ou par un abus de l'emploi de l'éclairage oblique.

<i>Vu, le Doyen,</i>	<i>Vu, le Président,</i>
ROGER.	S. STROHL.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

CHARLETY.

Bibliographie

- J. E. BARNARD et F. E. WELCH. — Practical Photomicrography, Londres, 1925.
- W. BAGSHAW. — Elementary Photomicrography, Londres, 1915.
- L. S. BEALE. — How to Work with the Microscope, Londres, 1886.
- BEAUREGARD. — Le Microscope et ses Applications, Namur, 1891.
- CONRAD BECK. — The Microscope, Londres, 1924.
- E. C. BOUSFIELD. — Guide to the Science of Photomicrography, Londres, 1892.
- W. B. CARPENTER. — The Microscope and its Revelations, Londres, 1901.
- CHARLES CHEVALIER. — Des Microscopes et de leur Usage, Paris, 1839.
- C. H. CLARK. — Practical Methods in Microscopy, Boston, 1896.
- A. C. COLES. — Critical Microscopy, Londres, 1921.
- COTTON et MOUTON. — Les Ultra-microscopes, Paris, 1906.
- CROSS et MARTIN J. COLE. — Modern Microscopy, Londres, 1922.
- G. E. DAVIS. — Practical Microscopy, Londres, 1895.
- DONNÉ. — Introduction au Cours de Microscopie, Paris, 1845.
- S. E. DOWDY. — The Microscope. How to Choose and Use it Londres, 1921.
- DUVAL et LEREBoullet. — Manuel du Microscope, Paris, 1877.
- FRANCOTTE. — Manuel de Technique microscopique, Bruxelles, 1886.
- S. H. GAGÉ. — The Microscope, New-York, 1920.
- GALIPPE et BEAUREGARD. — Guide pratique des Travaux de Micrographie, Paris, 1888.
- J. GUIART et L. GRIMBERT. — Précis de Diagnostic chimique, microscopique et parasitologique, Paris, 1922.
- C. A. HALL. — How to Use the Microscope, Londres, 1924.
- HANNOVER. — De la Construction et de l'Emploi du Microscope, Paris, 1855.
- HIND et RANGLES. — Handbook of Photomicrography, Londres, 1927.
- JABEZ HOGG. — The Microscope, Londres, 1898.
- F. L. JAMES. — Elementary microscopical Technology, St-Louis, 1887.

- Journal of the Photomicrographic Society.*
Journal of the Quekett Microscopical Club.
Journal of the Royal Microscopical Society.
A. JUILLET et L. GALAVIELLE. — *La Pratique microscopique*, Paris, 1923.
KAISERLING. — *Lehrbuch der Mikrophotographie*, Berlin, 1903.
LALTEUX. — *Manuel de Technique microscopique*, Paris, 1887.
M. LANGERON. — *Précis de Microscopie*, Paris, 1925.
KURT LAUBENHEIMER. — *Lehrbuch der Mikrophotographie*, Berlin, 1920.
LEE. — *The Microtometist's Vade-Mecum*, Londres, 1928.
F. MONPILLARD. — *Macrophotographie et Microphotographie*, Paris, 1926.
MOREL et SOULIÉ. — *Traité de Technique microscopique*, Paris, 1899.
C. NAGEL et SCHWENDENER. — *Das Mikroskop.*, Leipzig, 1867.
PELLETAN. — *Traité du Microscope*, Paris, 1878.
A. PRINGLE. — *Practical Photomicrography*, Londres, 1902.
J. QUEKETT. — *Practical Treatise on the Use of the Microscope*, Londres, 1855.
H. SCHACHT. — *Das Mikroskop.*, Berlin, 1851.
R. SCHMEBLICK. — *Die Anwendung des Mikroskopes*, Berlin, 1922.
A. SCHNEIDER. — *Microscopy and Micro-technique*, Chicago, 1899.
C. SEILER. — *Compendium of Microscopical Technology*, Philadelphie, 1880.
SHILLINGTON SCALES. — *Practical Microscopy*, Londres, 1926.
E. J. SPITTA. — *Microscopy* Londres, 1920.
— *Photomicrography*, Londres, 1899.
H. VAN HEURCK. — *Le Microscope*, Anvers, 1891.
G. E. A. WINSLOW. — *Elements of Applied Microscopy*, Londres, 1905.
WRATTEN (Kodak). — *Photomicrography*, Londres, 1926.
LEWIS WRIGHT et A. DREW. — *The Microscope*, Londres, 1927.
-

Table des Matières

	Pages
Avant-propos	11
<i>Description du Microscope</i>	
Statif	13
Optique	31
Choix d'un Microscope	59
Tests pour le Microscope	64
<i>Technique de la Manipulation microscopique</i>	
Éclairage par Lumière transmise	76
Éclairage par Lumière diffractée	110
Éclairage par Lumière réfléchie	128
Causes d'Erreurs en Microscopie	133
<i>Procédés pour enregistrer les Observations</i>	
Procédés pour déterminer les Dimensions d'un Objet	139
Procédés pour déterminer la Forme d'un Objet	142
Procédés pour déterminer la Position d'un Objet	152
Les Microscopes binoculaires	154
Conclusions	159
Bibliographie	161

7

Table des Matières

Limoges, Imprimerie Commerciale Perrette

